

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE



ANNEE 2008

THESE N° 3339/1

**IMMUNOSUPPRESSEURS
ET
NEPHROPATHIE CHRONIQUE D'ALLOGREFFE**

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 28 octobre 2008

PAR

Virginie de MERINDOL
Née le 10 novembre 1981 à Limoges



EXAMINATEURS DE LA THESE

Mme. le Docteur Annick ROUSSEAU – Présidente
Mme. le Professeur Marie ESSIG – Juge (Directeur de thèse)
Mme. le Docteur Martine LARTIGUE – Juge

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE



ANNEE 2008

THESE N° 3339

**IMMUNOSUPPRESSEURS
ET
NEPHROPATHIE CHRONIQUE D'ALLOGREFFE**

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 28 octobre 2008

PAR

Virginie de MERINDOL
Née le 10 novembre 1981 à Limoges

EXAMINATEURS DE LA THESE

Mme. le Docteur Annick ROUSSEAU – Présidente
Mme. le Professeur Marie ESSIG – Juge (Directeur de thèse)
Mme. le Docteur Martine LARTIGUE – Juge

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE

DOYEN DE LA FACULTE

Monsieur **COMBY** Francis

ASSESSEURS

Monsieur le Professeur **CARDOT** Philippe

Madame **FAGNERE** Catherine, Maître de Conférences

PROFESSEURS

BENEYTOUT Jean-Louis	BIOCHIMIE - BIOLOGIE MOLECULAIRE
BOTINEAU Michel	BOTANIQUE - CRYPTOGAMIE
BROSSARD Claude	PHARMACIE GALENIQUE
BUXERAUD Jacques	CHIMIE ORGANIQUE - CHIMIE THERAPEUTIQUE
CARDOT Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
CHULIA Albert	PHARMACOGNOSIE
CHULIA Dominique	PHARMACIE GALENIQUE
DELAGE Christiane	CHIMIE GENERALE - CHIMIE MINERALE
DESMOULIERE Alexis	PHYSIOLOGIE
DREYFUSS Gilles	PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE
DUROUX Jean-Luc	PHYSIQUE - BIOPHYSIQUE
HABRIOUX Gérard	BIOCHIMIE FONDAMENTALE
LACHATRE Gérard	TOXICOLOGIE
MOESCH Christian	HYGIENE - HYDROLOGIE - ENVIRONNEMENT
OUDART Nicole	PHARMACODYNAMIE
ROGEZ Sylvie	BACTERIOLOGIE - VIROLOGIE

MAITRES DE CONFERENCES

ALLAIS Daovy	PHARMACOGNOSIE
BASLY Jean-Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
BATTU Serge	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
CALLISTE Claude	BIOPHYSIQUE, MATHÉMATIQUES, INFORMATIQUE
CLEDAT Dominique	CHIMIE ANALYTIQUE
COMBY Francis	CHIMIE THÉRAPEUTIQUE
DELEBASSEE Sylvie	BACTÉRIOLOGIE-VIROLOGIE
DREYFUSS Marie-Françoise	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
FAGNERE Catherine	CHIMIE ORGANIQUE
FROISSARD Didier	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE
JAMBUT Anne Catherine	CHIMIE THÉRAPEUTIQUE
LAGORCE Jean-François	CHIMIE ORGANIQUE (en disponibilité)
LARTIGUE Martine	PHARMACODYNAMIE
LIAGRE Bertrand	SCIENCES BIOLOGIQUES
LOTFI Hayat	TOXICOLOGIE
MARION-THORE Sandrine	CHIMIE THÉRAPEUTIQUE
MARRE-FOURNIER Françoise	BIOCHIMIE
MOREAU Jeanne	IMMUNOLOGIE
PARTOUCHE Christian	PHYSIOLOGIE
POUGET Christelle	PHARMACIE GALÉNIQUE
ROUSSEAU Annick	BIOMATHÉMATIQUES
SIMON Alain	CHIMIE PHYSIQUE ET CHIMIE MINÉRALE
TROUILLAS Patrick	BIOMATHÉMATIQUES ET INFORMATIQUE PHARMACEUTIQUE
VIANA Marylène	PHARMACIE GALÉNIQUE
VIGNOLES Philippe	BIOMATHÉMATIQUES

PROFESSEUR CERTIFIÉ

MARBOUTY Jean-Michel ANGLAIS

ATER A MI-TEMPS

GIRY Karine Sce Mme le Prof. CHULIA

*A mes parents, en témoignage de mon amour et de ma reconnaissance,
merci pour votre soutien et vos encouragements permanents*

A Florian, pour sa présence à mes côtés

*A ceux, sans qui ces années auraient été bien différentes et beaucoup moins drôles ...
Antoine, Armand, Eric, Faustine, Gaëlle, Géraldine, Matthieu, Nico, Virginie, Younes*

PLAN

Introduction

PARTIE I : LA GREFFE D'ORGANE

- I. INTRODUCTION
- II. ASPECTS IMMUNOLOGIQUES DE LA GREFFE : LE REJET
- III. LES AUTRES COMPLICATIONS

PARTIE II : LES IMMUNOSUPPESSEURS

- I. PRINCIPE DES TRAITEMENTS IMMUNOSUPPESSEURS
- II. LES INHIBITEURS DE LA CALCINEURINE
- III. LES INHIBITEURS DE LA MTOR
- IV. L'ACIDE MYCOPHENOLIQUE
- V. SUIVI THERAPEUTIQUE PHARMACOLOGIQUE

PARTIE III : ROLE DES IMMUNOSUPPESSEURS DANS LA NEPHROPATHIE CHRONIQUE D'ALLOGREFFE

- I. DE L'INSUFFISANCE RENALE CHRONIQUE A LA TRANSPLANTATION RENALE
- II. LA NEPHROPATHIE CHRONIQUE D'ALLOGREFFE
- III. ROLE PROPRE DES IMMUNOSUPPESSEURS DANS LA NCA

Conclusion

Références bibliographiques

Table des matières

Table des illustrations

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac:	anticorps
Ag:	antigène
AMP :	acide mycophénolique
ANG II :	angiotensine II
CMH :	complexe majeur d'histocompatibilité
Ig :	immunoglobuline
IMPDH :	inosine monophosphate déshydrogénase
LB :	lymphocyte B
LT :	lymphocytes T
MEC :	matrice extracellulaire
MMF :	mycophenolate mofetil
NCA :	néphropathie chronique d'allogreffe

INTRODUCTION

La transplantation rénale est la greffe d'organe la plus fréquemment réalisée, elle a représenté en 2007 près de 58% des transplantations effectuées en France. Alors que la survie du greffon à court terme a fortement été améliorée grâce, entre autre, à une meilleure connaissance des mécanismes immunologiques du rejet et à l'amélioration des traitements immunosuppresseurs, la survie à long terme du greffon et du patient pose encore un véritable problème. Seulement 36% des greffons et 58% des patients survivent 10 ans après la greffe.

Rapidement après la transplantation, le greffon rénal est le siège d'une forme particulière de maladie rénale appelée néphropathie chronique d'allogreffe (NCA) qui est responsable d'une détérioration progressive de la fonction rénale. La NCA est un facteur pronostic majeur de la perte du greffon à long terme. Il s'agit d'une maladie multifactorielle, résultant d'une série d'agressions immunologiques et non immunologiques qui conduisent à la destruction progressive des néphrons, à l'altération irréversible de la fonction rénale et, à long terme, à la perte irrémédiable du greffon. La NCA est caractérisée par des lésions histologiques typiques de fibrose interstitielle et d'atrophie tubulaire.

Les différentes études menées sur les biopsies rénales ont apporté la preuve que les traitements immunosuppresseurs, mis en place après la greffe pour éviter les épisodes de rejet, participaient directement dans le développement et la progression de la NCA.

Au cours de ce travail, après avoir réalisé un rappel de la littérature concernant ces différents traitements immunosuppresseurs, nous ferons le point sur les différents mécanismes cellulaires qui soutiennent l'hypothèse de leur implication dans la NCA.

PARTIE I : LA GREFFE D'ORGANE

I. INTRODUCTION

I.1 Quelques dates

Dès le début du XX^e siècle, les médecins explorent différentes techniques de transplantation. La transplantation d'organe chez l'animal donne des résultats prometteurs mais seule l'autogreffe semble être possible.

En 1954, la première transplantation rénale entre vrais jumeaux réussit. La technique à présent maîtrisée, les recherches se focalisent alors sur l'immunodépression qui permettrait ainsi la greffe entre des individus non apparentés. Dans un premier temps l'irradiation totale du receveur associée à un traitement par corticoïdes permet d'affaiblir suffisamment le système immunitaire mais elle entraîne de lourds effets secondaires ; la recherche s'oriente donc vers des traitements immunosuppresseurs moins agressifs.

A partir des années 1960, les médecins cherchent à élargir la greffe à d'autres organes que le rein. Après plusieurs échecs les premières greffes de foie, de poumon et de pancréas sont réalisées avec succès par quelques équipes dans le monde entier, et, en 1967, le Pr Christian Barnard effectue la première greffe cardiaque. Cependant jusqu'à la fin des années 70, peu de ces nouvelles transplantations sont réalisées, seule la greffe rénale est pratiquée.

A l'aube des années 80, le chercheur suisse Jean-François Borel découvre les effets immunosuppresseurs de la ciclosporine mais celle-ci doit être utilisée à des doses toxiques pour être réellement efficace. Thomas Starzl vainc alors le problème en montrant que l'association de la ciclosporine à moindres doses à des corticoïdes est tout aussi efficace. Le taux de survie à cinq ans passe alors de 40 à 75%.

Les années 90 sont celles de la consolidation des techniques de la greffe, de la découverte de nouveaux médicaments immunosuppresseurs et de la mise en place d'une réglementation autour de la transplantation. En 1994, la loi de bioéthique énonce, pour ce qui a trait à la greffe d'organes, plusieurs grands principes comme le consentement présumé, la gratuité du don et l'anonymat, qui sont aujourd'hui encore les règles de bases de la transplantation. En même temps l'Etablissement Français des Greffes (intégré aujourd'hui à l'Agence de la Biomédecine) est créé et placé sous la tutelle du ministre chargé de la santé. L'organisme est chargé du recensement exhaustif des donneurs, de la gestion des listes

d'attente et de l'évaluation des pratiques. La transplantation passe donc d'une technique expérimentale à une pratique codifiée et réglementée.

Aujourd'hui, la transplantation est une technique bien maîtrisée et couramment utilisée mais qui souffre d'une pénurie de greffons disponibles. Les recherches s'orientent donc vers de nouvelles voies comme la transplantation de cellules souches, les organes artificiels et la xénogreffe.

I.2 Quelques chiffres

Le nombre total de greffes effectuées chaque année ne cesse d'augmenter. En 2007, 4666 greffes ont été réalisées en France. Cependant, parallèlement à cette progression, le nombre de patients en attente d'une greffe augmente également sans que le nombre de greffon disponible soit suffisant pour répondre à la demande, si bien que seulement un tiers des patients nécessitant une greffe en reçoit une (Figure 1 et Annexe 1). Aujourd'hui, de nombreux organes peuvent être greffés avec succès comme le cœur, le foie ou encore les poumons mais la transplantation rénale est de loin la plus fréquente (figure 2).

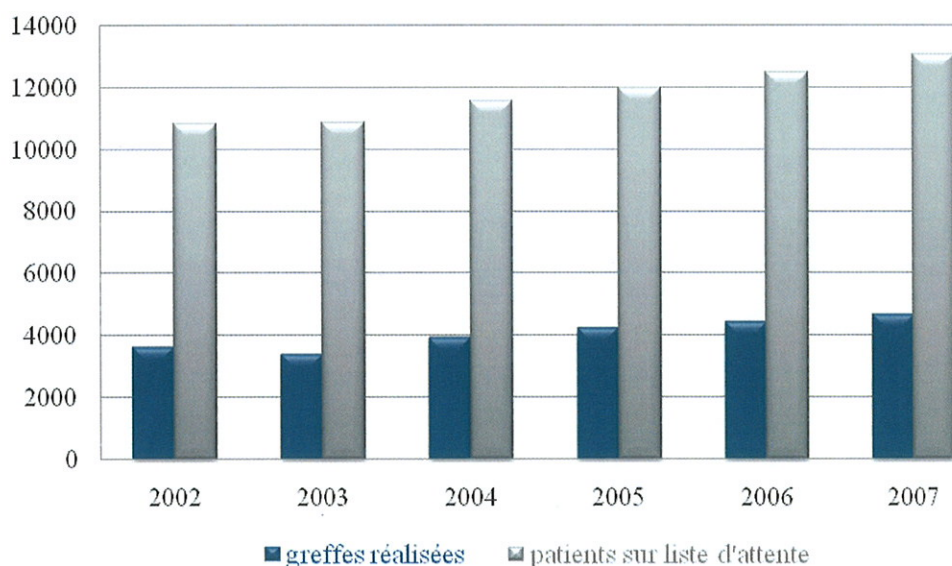


Figure 1 : Evolution du nombre total de greffes réalisées et du nombre de patients inscrits sur liste d'attente en France entre 2001 et 2007 (1).

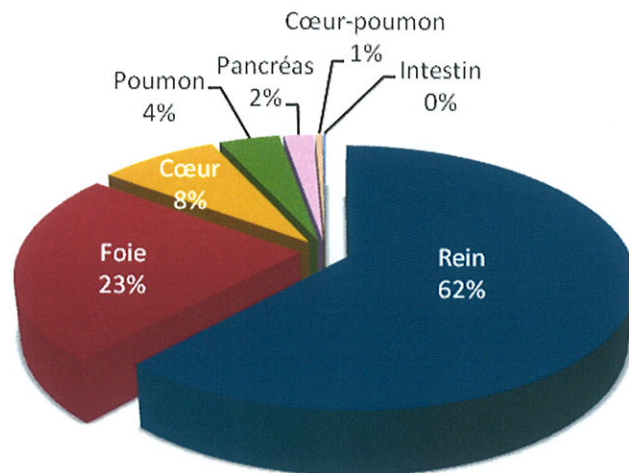


Figure 2 : Répartition des greffes d'organes réalisées en 2007 (1).

La greffe est une thérapeutique de mieux en mieux maîtrisée dont les résultats en termes de survie et de qualité de vie sont en constante progression. Il reste cependant de nombreux problèmes à régler comme celui de la pénurie de greffon observée depuis plusieurs années. Afin de pallier cela, la loi de bioéthique a été élargie et des dispositions destinées à favoriser l'accès à la greffe ont été prises : autorisation de prélèvements sur des donneurs décédés à cœur non battant ; élargissement du cercle des donneurs vivants et mise en place de dispositions tarifaires destinées à soutenir l'activité des services de prélèvements et de greffes. Avec l'augmentation de la survie des patients est également apparu le problème de la toxicité à long terme des traitements immunosuppresseurs, en particulier la toxicité rénale associée aux inhibiteurs de la calcineurine, qui nécessite d'être mieux comprise afin d'améliorer encore la survie post-greffe et de réduire la perte du greffon à long terme.

En effet, malgré les constantes améliorations des traitements mis en place après la greffe, la survie du greffon à long terme n'a pas été améliorée d'autant. Ainsi entre les périodes 1985-1989 et 1995-1999, le taux de survie du greffon 10 ans après la greffe n'est passé que de 50.5% à 63.2% alors que la prise en charge des patients à court terme est de mieux en mieux maîtrisée (figure 3).

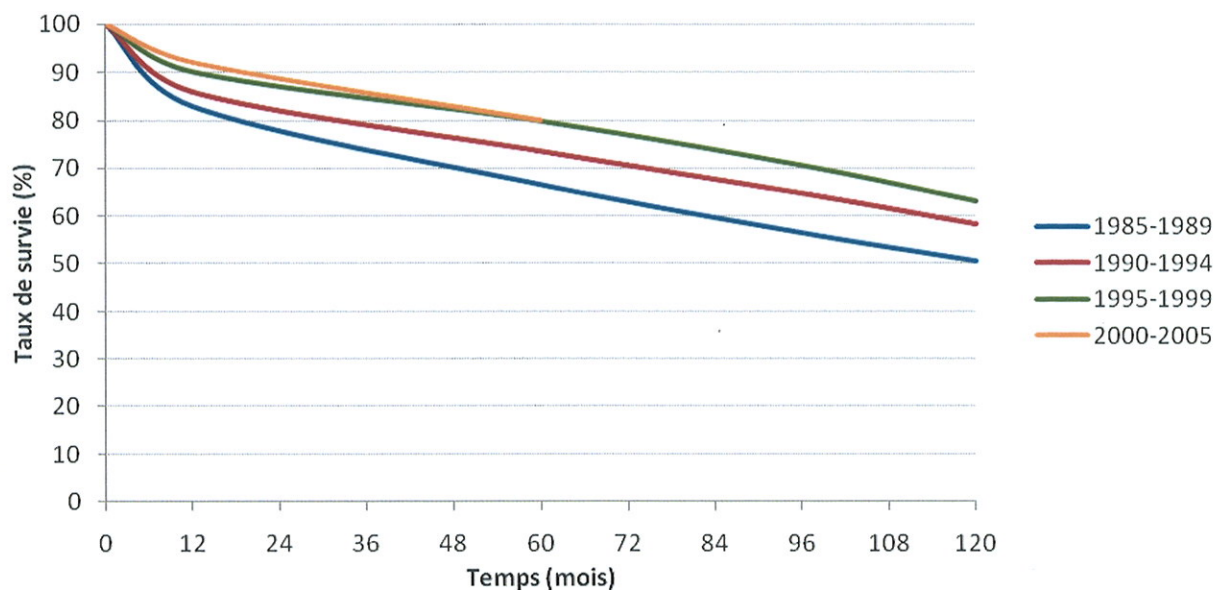


Figure 3 : Evolution du taux de survie du greffon rénal selon la période de greffe (1).

II. ASPECTS IMMUNOLOGIQUES DE LA GREFFE : LE REJET

La transplantation d'un organe allogénique est caractérisée par le déclenchement chez le receveur d'une importante réponse immunitaire dirigée contre les allo-antigènes de l'organe transplanté reconnus comme étrangers. Cette réaction immunitaire, lorsqu'elle n'est pas limitée par un traitement immunosuppresseur adéquat, peut conduire à l'apparition d'épisodes de rejet et mettre en péril la greffe et la vie du patient.

L'allogreffe induit ainsi deux phénomènes qui mettent en jeu les deux types d'immunité existants :

- d'une part, une sensibilisation au niveau cellulaire, avec production de lymphocytes T (LT)-mémoires à longue vie qui gardent ensuite la spécificité de la reconnaissance des Ag de la greffe (immunité cellulaire) ;
- d'autre part, une réponse humorale avec production d'anticorps (Ac) de type variés (immunité humorale).

Selon le type de cellules mis en jeu, on parle alors de rejet cellulaire ou de rejet humoral.

II.1 Immunité à médiation cellulaire

II.1.1 Les cellules effectrices

De nombreuses cellules sont impliquées dans le rejet d'allogreffe mais les LT CD3+ ont un rôle prédominant. On trouve parmi eux :

- les LT cytotoxiques (LTc, CD8+) qui reconnaissent les Ag d'histocompatibilité (CMH) de classe I et possèdent une cytotoxicité directe sur la cellule cible. Une même cellule effectrice peut détruire successivement plusieurs cellules cibles portant le même antigène ;

- les LT auxiliaires (LTh, CD4+) qui reconnaissent les Ag de classe II.

Il existe une coopération entre ces deux types de lymphocytes qui induit la réponse cytotoxique. Cette coopération s'établit grâce à la production de lymphokines par les LTh, en particulier l'interleukine 2 (IL-2), qui stimule la prolifération et la maturation des LTc exprimant le récepteur de l'IL-2 (RIL-2).

II.1.2 Le rejet cellulaire

La réponse immunitaire faisant suite à la transplantation et qui est responsable du rejet cellulaire peut être divisée en trois phases :

- une phase afférente de reconnaissance des allo-antigènes par les LT ;
- une phase d'activation et de prolifération des LT ;
- une phase d'infiltration et de destruction du greffon.

*** RECONNAISSANCE ALLOGENIQUE**

Les allo-antigènes (molécules du CMH) présents à la surface du greffon sont reconnus comme étrangers par les LT du receveur. Cette reconnaissance est complexe et met en jeu :

- les cellules présentatrices d'Ag (CPA) du donneur comme les cellules dendritiques, particulièrement antigéniques ;
- les CPA du receveur ;
- les LT du receveur qui reconnaissent spécifiquement les allo-antigènes présentés par les CPA ;

Il existe deux modes de reconnaissance des ces allo-antigènes selon leur mode de présentation aux LT.

⇒ Reconnaissance directe

La reconnaissance directe est la principale voie de présentation de l'antigène au cours des premières semaines après la greffe ; c'est elle qui est responsable de la survenue des rejets aigus cellulaires précoces. Dans ce mode de reconnaissance, les cellules dendritiques du donneur présentes sur le greffon migrent vers les organes lymphoïdes secondaires du receveur. Au cours de cette migration, elles mûrissent et expriment alors une grande quantité de molécules du CMH qui seront reconnues directement par les récepteurs des LT du receveur (TRC). Cette reconnaissance directe par les LT explique 90% de l'intensité de la réaction allogénique. Cette réaction est violente (plus de 100 fois supérieure à celle que suscite un antigène environnemental) car elle met en jeu un grand nombre de LT. Il s'agit d'une forme de reconnaissance qui est propre à la réaction allogénique et qui n'est pas retrouvée à d'autres niveaux du fonctionnement du système immunitaire.

⇒ Reconnaissance indirecte

La reconnaissance indirecte est le mode de reconnaissance classiquement utilisé par le système immunitaire dans les processus de défense de l'organisme. Au cours de cette phase, les cellules dendritiques du donneur disparaissent progressivement et sont remplacées par les cellules dendritiques du receveur. Celles-ci migrent alors dans le greffon, captent les molécules HLA du donneur et les présentent sous forme de peptides aux LT CD4+. Ces cellules T CD4+ allo-réactives participent à la réaction d'hypersensibilité retardée en produisant des cytokines et permettent l'activation des cellules B et la production d'allo-anticorps impliqués dans le rejet humoral. En contraste avec le mode de reconnaissance précédent, la reconnaissance indirecte implique un nombre élevé de peptides allogéniques mais un nombre beaucoup plus faible de précurseurs T dirigés contre ces peptides. Il est probable que ce mécanisme de reconnaissance joue un rôle majeur au cours du processus de rejet chronique, qui est en partie au moins entretenu par un conflit allogénique évoluant à bas bruit.

*** ACTIVATION DES LYMPHOCYTES T**

Au cours de cette phase, les lymphocytes activés par la reconnaissance des allo-antigènes prolifèrent et se différencient. Les LT se différencient en lymphocytes T cytotoxiques (LTc) et en lymphocytes T auxiliaires ou helpers (LTh) qui sécrètent des molécules intervenant dans les régulations interleucocytaires (lymphokines de type IL-2). Parallèlement, les lymphocytes

B se différencie et se multiplie en plasmocytes qui sécrètent des Ac, eux-mêmes spécifiques des allo-antigènes et qui sont impliqués dans le rejet humoral.

Il existe 2 signaux d'activation des LT.

Le premier signal est l'interaction entre le TRC associé au marqueur de membrane CD3 (TCR/CD3) et le CMH présentant l'antigène (CMH-Ag). C'est la grande variabilité du TCR qui permet au complexe TCR/CD3 de reconnaître une infinité d'Ag étrangers présentés par les molécules du CMH.

Le deuxième signal est l'activation par les molécules de co-stimulation. Parmi les multiples signaux de co-stimulation qui existent, deux couples de molécules sont particulièrement bien caractérisés : le couple CD28/B7 et le couple CD40/CD40-ligand. En l'absence de ce deuxième signal, l'activation des cellules T est incomplète et aboutit à un état réfractaire ou d'anergie, qui peut être à la base d'une forme de tolérance de greffe. L'association de ces deux signaux permet la progression du cycle cellulaire des LT de la phase G0 à la phase G1. Lorsqu'ils sont correctement activés, les LT entraînent la stimulation d'une cascade de systèmes enzymatiques, un afflux de calcium dans les cellules, l'activation de la phosphatase 2B (la calcineurine), puis de facteurs de transcription qui pénètrent dans le noyau et induisent l'expression de gènes, dont celui de l'interleukine IL-2 et de son récepteur à la surface de la cellule. L'IL-2 permet alors l'amplification autocrine et paracrine de la prolifération des LT et le passage de la phase G1 à la phase S du cycle cellulaire.

*** INFILTRATION DU GREFFON**

Les LT activés dans les organes lymphoïdes secondaires, gagnent ensuite le sang par le canal thoracique et infiltrent le greffon après une interaction complexe avec les cellules endothéliales du donneur. Ils entament alors une phase de destruction du greffon. Il existe deux mécanismes d'agression du parenchyme de ce greffon :

- un mécanisme de cytotoxicité par lequel les cellules tueuses insèrent des molécules toxiques dans les cellules cibles par l'intermédiaire d'un canal membranaire. Parmi ces molécules on peut citer les granzymes A et B et la perforine. Ce mécanisme concerne les cellules T cytotoxiques et les cellules NK ;
- un mécanisme d'apoptose déclenché par la liaison de la cellule cytotoxique à sa cible.

Au sein d'un greffon en phase de rejet aigu, l'infiltrat cellulaire est composé d'environ 60% de cellules T (en majorité des CD8+ cytotoxiques), de 30% de monocytes-macrophages et de 10% de cellules B et NK.

II.2 Immunité à médiation humorale

II.2.1 Les cellules effectrices

La réponse immunitaire humorale est liée à l'activation des LB porteurs de récepteurs B spécifiques des Ag. Une fois activés, les LB se différencient en plasmocytes et sécrètent dans Ac spécifiques dirigés contre les allo-antigènes.

II.2.2 Le rejet humoral

Le rejet humoral est un rejet causé par des allo-anticorps du receveur, dirigés contre le greffon.

Après la reconnaissance des allo-antigènes et sous l'effet de signaux d'origine T lymphocytaire (expression de CD40, IL-4, IL-5, IL-6), les LB prolifèrent et se différencient en plasmocytes qui expriment alors à leur surface des Ac spécifiques: les immunoglobulines (Ig). Lors de la première rencontre avec l'antigène (réponse primaire), les Ig produites sont des IgM de faible affinité ; lors de réintroductions antigéniques (réponse secondaire), les Ig sont produites précocement, en quantité élevée et il s'agit essentiellement d'IgG de haute affinité.

Ces Ig possèdent deux fonctions distinctes : une fonction de reconnaissance des Ag grâce à leur région variable et une fonction effectrice grâce à leur région constante. La région variable permet ainsi de reconnaître et de fixer un grand nombre d'Ag d'histocompatibilité du greffon, qu'ils soient de classe I ou II, et donc de faciliter leur élimination. Cette association active le complément, constitué d'un grand nombre de protéines plasmatiques dont une partie est capable de se fixer aux régions constantes des Ig. L'activation du complément induit alors un certain nombre de clivages protéolytiques qui aboutissent à la formation d'un complexe d'attaque membranaire capable de lyser les membranes cellulaires et de détruire ainsi les cellules du greffon. On parle d'Ac lymphocytotoxiques, d'Ac agglutinants et d'Ac bloquants pour ces Ig qui sont directement cytotoxiques. Il existe également des Ac qui ne sont pas directement cytotoxiques mais qui sont capables de rendre les cellules mononuclées non sensibilisées aptes à tuer les cellules du donneur. On parle d'Ac ADCC (antibody dependent cell cytotoxicity).

Jusque là peu considéré par rapport au rejet cellulaire, le rejet humoral est à présent au centre des investigations et constitue par lui-même une entité clinico-pathologique de mauvais pronostic dont la physiopathologie est liée aux Ac et à l'activation du complément (2). De nombreuses études ont été réalisées depuis le début des années 1990. Elles ont mis en évidence la présence de dépôts de C4d (produit de dégradation du complément) le long des capillaires péricapillaires et glomérulaires de biopsies rénales(3) et la corrélation entre ces dépôts et la présence *de novo* d'Ac anti-HLA spécifiques du donneur dans le sérum du receveur(4). En 2002, Böhmig et al. confirment la spécificité du C4d comme marqueur du rejet humoral (5). La recherche de ces dépôts est à présent systématiquement réalisée et permet de diagnostiquer un épisode de rejet humoral et d'en évaluer sa sévérité.

Initialement identifié comme responsable du rejet hyper aigu survenant chez des patients déjà sensibilisés, le rejet humoral est à présent également impliqué dans les épisodes de rejets aigus et chroniques, au même titre que le rejet cellulaire.

II.3 Les différents types de rejet

Le rejet est une complication fréquente de la greffe. La littérature fait apparaître la survenue d'au moins une crise de rejet chez 30 à 50% des greffés au cours de la première année. La survenue précoce d'une telle crise témoigne généralement d'une immunosuppression insuffisante.

Selon leur moment d'apparition après la greffe, il existe 4 types de rejet : le rejet suraigu, le rejet aigu accéléré, le rejet aigu et le rejet chronique.

II.3.1 Le rejet hyper-aigu

Le rejet hyper-aigu survient dans les quelques minutes ou heures qui suivent la transplantation. Il est généralement diagnostiqué par une absence de reprise de fonction du greffon associée à un aspect cyanotique et mou à la palpation. Ce type de rejet survient essentiellement en transplantation rénale et semble plus rare en transplantation cardiaque ou hépatique. Il semble être majoritairement dû à l'immunité humorale : les Ac existant avant la transplantation se fixent sur l'endothélium du greffon lors de la revascularisation, activent les molécules du complément et stimulent la réponse immunitaire. Les Ac concernés sont principalement des Ac anti-HLA qui peuvent apparaître lors d'une grossesse ou d'une

transplantation précédente. Ce type d'accident précoce est devenu exceptionnel aujourd'hui avec la pratique systématique de cross-matches en pré-transplantation. Ce test consiste à rechercher, juste avant la greffe, la présence dans les différents sérums du receveur, d'Ac dirigés contre les Ag HLA du greffon que l'on se propose de transplanter.

II.3.2 Le rejet aigu accéléré

Le rejet aigu accéléré est une forme de rejet intermédiaire entre le rejet hyper-aigu et le rejet aigu classique. Il apparaît entre 2 et 6 jours après la transplantation et son mécanisme exact est encore mal compris. Il s'agirait du déclenchement d'une réponse cellulaire suite à une « pré-immunisation » antérieure du receveur contre le donneur. Histologiquement les lésions sont très sévères avec notamment des aspects de vascularite nécrosante. Malgré le renforcement du traitement immunosuppresseur, ce type de rejet est généralement difficile à contrôler et participe largement à la perte précoce des greffons rénaux.

II.3.3 Le rejet aigu cellulaire

Le rejet aigu cellulaire survient essentiellement dans les 3 premiers mois après la greffe, avec un pic de fréquence dans le premier mois. Il est dû à la reconnaissance par les LT du receveur des Ag allogéniques du donneur. Les lymphocytes s'activent, prolifèrent, envahissent le greffon et en détruisent les différentes structures. Actuellement grâce aux immunosuppresseurs les épisodes de rejet aigu surviennent dans moins de 20% des greffes, ils altèrent modestement la fonction des organes et sont généralement bien contrôlés. Plusieurs critères permettent de diagnostiquer un rejet aigu, ils sont :

- cliniques : greffon douloureux et augmentation de son volume, fièvre, diminution de la diurèse ;
- biologiques : augmentation de la créatinine plasmatique et de l'urée sanguine reflétant la dégradation de la fonction rénale.
- histologiques, grâce à une biopsie de l'organe.

L'échographie doppler peut également montrer une diminution voire une disparition des flux diastoliques qui témoigne de l'œdème intra-parenchymateux.

Le traitement du rejet aigu comprend en général un renforcement de la corticothérapie : généralement trois bolus d'un gramme de méthyl-prednisolone puis une augmentation des doses quotidiennes pendant au moins un mois. Dans certains cas, une prescription de globulines anti-lymphocytaires pendant 8 à 10 jours peut être établie pour renforcer encore le

traitement. Dans 90% des cas la fonction rénale s'améliore en quelques jours et retrouve son niveau de base.

II.3.4 Le rejet chronique

Le rejet chronique est la cause la plus fréquente de détérioration du greffon au long court. Il s'agit cependant d'une entité mal définie qui correspond à une dégradation progressive de la fonction du greffon associée à la survenue d'une fibrose et d'une atteinte des vaisseaux artériels dont la lumière se rétrécit. Son diagnostic est posé au-delà du sixième mois après la transplantation et est confirmé par une biopsie mettant en évidence les atteintes histologiques mais il semblerait que ces atteintes apparaissent rapidement après la greffe. Dans le cadre de la transplantation rénale, on parle de néphropathie chronique d'allogreffe (NCA). Les mécanismes moléculaires sont encore mal connus et semblent avoir une origine complexe : immunologique (rejet aigu, non compliance) et non immunologique (néphrotoxicité des anti-calcineurine, dyslipidémie, hypertension, diabète, virus, obésité, tabac).

L'élément essentiel dans la prévention des phénomènes de rejets après une transplantation d'organe est la mise en place, parfois avant même l'intervention chirurgicale, d'une thérapie immunosuppressive optimale. Aujourd'hui, grâce à des traitements immunosuppresseurs de plus en plus efficaces et de mieux en mieux maîtrisés, les épisodes de rejets aigus survenant la première année après la greffe sont rares et bien contrôlés ; seuls les rejets chroniques posent encore un véritable problème et ne sont pas toujours évités. Il existe cependant de nombreux arguments qui laissent penser que la meilleure gestion des rejets au cours de la première année aura des répercussions importantes sur l'incidence des rejets chroniques en retardant et diminuant leur fréquence de survenue.

De plus, même si le respect des compatibilités HLA entre le donneur et le receveur participe à un meilleur pronostic de la greffe à long terme, il est maintenant bien établi que d'autres facteurs non immunologiques comme les conditions de prélèvements et de conservation de l'organe ou encore le délai écoulé entre le prélèvement et la réimplantation du greffon chez le receveur (temps d'ischémie froide) jouent un rôle non négligeable dans la survenue du rejet chronique.

II.4 Classification de Banff

Il est possible de classer les différents types de rejet grâce à la classification de Banff (nom d'une localité canadienne où s'est réuni un collège d'experts internationaux) publiée en 1993 et réactualisée pour la dernière fois en 2007(6). Le but de cette classification est de standardiser un certain nombre de paramètres morphologiques et cliniques qui permettent d'identifier la nature des rejets et d'en établir une échelle de gravité. Il est ainsi possible d'uniformiser les différentes données publiées et d'améliorer les collaborations internationales, en particulier dans le domaine des essais multicentriques concernant de nouveaux immunosuppresseurs.

Cette classification se base essentiellement sur l'évaluation histologique des biopsies des reins transplantés. En effet, la biopsie est souvent indispensable pour différencier les nombreuses causes de dysfonction aigüe du transplant (lésions tubulaires aigües, toxicité des inhibiteurs de la calcineurine, phénomènes obstructifs) ainsi que divers processus comme des infections ou une toxicité médicamenteuse caractérisée par des infiltrats inflammatoires dans l'allogreffe. Dans cette situation complexe, l'identification de critères morphologiques spécifiques (cellulaire et immunitaire) permet de d'identifier et de diagnostiquer les différents types de rejet et oriente le cliniciens vers le traitement le plus adéquat. Le rejet chronique doit également être différencié des autres causes de fibrose dans l'allogreffe, avec possibilité d'une intervention thérapeutique lorsque le diagnostic est correctement établi.

La classification de Banff différencie : l'absence de rejet ; le rejet humoral (aigu et chronique) ; le rejet cellulaire (aigu et chronique) ; la néphropathie chronique (FI-AT) et les autres pathologies de l'allogreffe. Afin d'établir le score lésionnel déterminant chaque type de rejet, elle étudie un certain nombre de lésions et fixe pour chacune sa chronicité (atteinte aigüe ou chronique) ainsi que sa sévérité grâce à un score allant de 0 (pas de modification) à 3 (atteinte sévère). La liste de ces paramètres est présentée dans le tableau 1.

Tableau 1 : Liste des paramètres pris en compte dans la classification de Banff.

Atteintes aiguës	
C4d	Présence de C4d le long des capillaires peritubulaires (Immunomarquage)
ptc	Inflammation des capillaires peritubulaires
ah (aah)	Epaississement hyalin artériolaire
i (ti)	Inflammation interstitielle
g	Glomérulite
t	Tubulite
v	Artérite
Atteintes chroniques	
cg	Glomérulopathie (présence de « double contours » créés par interposition mésangiale dans les boucles capillaires)
ct	Atrophie tubulaire
ci	Fibrose interstitielle
mm	Epaississement de la matrice mésangiale
cv	Epaississement fibreux de l'intima

III. LES AUTRES COMPLICATIONS

Aujourd'hui, après le phénomène de rejet, la cause majeure de la perte du greffon rénal est le décès du patient alors que ce même greffon est fonctionnel. Les principales causes de cette mortalité sont les complications cardiovasculaires, les complications infectieuses et les complications néoplasiques. Certaines complications sont communes à tous les organes transplantés (en particuliers les infections à germes opportunistes et les cancers) et d'autres sont liées à l'organe transplanté.

Dans le cadre de ce travail, les complications traitées sont celles observées lors d'une transplantation rénale. Un résumé de ces complications est présenté dans le tableau 2.

Tableau 2 : Liste des principales complications de la greffe rénale.

PHASE D'HOSPITALISATION (≈ 14 jours)
<u>Complications chirurgicales</u> : Thrombose, Lymphocèle, Fistule et sténose urinaire, Sténose de l'artère du greffon
<u>Complications immunologiques</u> : Rejet hyper aigu, Rejet aigu accéléré
<u>Complications rénales</u> : Non fonction primaire du greffon, Retard à la reprise de fonction du greffon
COMPLICATIONS PRECOCES (< 4 mois)
<u>Complications immunologiques</u> : Rejet aigu
<u>Infections opportunistes</u> : Pneumocystis carinii – Cytomegalovirus
COMPLICATIONS TARDIVES (> 4 mois)
<u>Complications immunologiques</u> : Rejet chronique
<u>Complications cardio-vasculaires</u> : Hypertension artérielle, Hyperlipidémie/diabète/obésité, Maladies cardio-vasculaires
<u>Infections</u>
<u>Syndromes lymphoprolifératifs et cancers</u>
<u>Complications rénales</u> : Récidive de la maladie rénale, Néphrotoxicité des anti-calcineurine, Néphropathie chronique d'allogreffe

III.1 Les complications cardio-vasculaires

Les complications cardio-vasculaires (maladie coronaire, maladie cérébro-vasculaire, maladie vasculaire périphérique) sont très fréquentes en raison de l'âge souvent élevé des patients transplantés, de l'existence d'une maladie ayant conduit à la greffe mais aussi de l'action néfaste de certains médicaments immunosuppresseurs qui favorisent la survenue d'hypertension, de troubles lipidiques et de troubles glucidiques.

La prévalence et l'incidence des ces maladies sont cinq fois plus élevées chez les transplantés que dans la population générale du même âge et du même sexe. Elles sont une cause importante de morbidité et la première cause de mortalité chez les receveurs d'allogreffe rénale. Parmi les complications cardio-vasculaires observées, la plus fréquente est l'hypertension artérielle, avec une prévalence très élevée, entre 60% et 80%. Il est habituel de considérer qu'environ deux tiers des patients transplantés sont hypertendus. D'une manière générale elle est sévère et relativement résistante au traitement médical. Les thromboses des sont également fréquentes (25%) mais elles ne semblent pas avoir d'influence directe sur le devenir du transplant.

III.2 Les complications infectieuses

Les complications infectieuses sont une cause majeure de morbi-mortalité pendant la première année : 80% des transplantés présentent au moins un épisode infectieux dans l'année qui suit la greffe. Ce risque infectieux est lié à la dose cumulée d'immunosuppresseurs ; aux facteurs environnementaux nosocomiaux (eau, salle d'opération, air conditionné) et à la présence de matériel étranger (cathéters, sondes urinaires) mais sa gravité est surtout corrélée à l'intensité et à la durée de l'immunosuppression. Les infections bactériennes sont actuellement moins fréquentes et les infections fongiques sont essentiellement représentées par les candidoses digestives. Les aspergilloses ou les cryptococcoses sont plus rares mais de grande gravité en dépit des nouveaux traitements antifongiques. Parmi les autres micro-organismes, l'infection à *Pneumocystis carinii* est responsable d'une grave pneumopathie mais sa fréquence a beaucoup diminué grâce à la prophylaxie. Les infections virales sont également encore fréquentes. Il s'agit d'infections à cytomégalovirus (CMV), par le virus d'Epstein-Bar (EBV) qui est susceptible d'induire ultérieurement des syndromes lymphoprolifératifs, par le BK virus responsable de néphropathies sévères et l'herpès virus humain 8 pouvant induire des sarcomes de Kaposi.

Le rôle de l'infection à CMV a également été évoqué comme facteur de risque de la survenue d'épisodes de rejet. Dans une étude prospective, portant sur 242 transplantations rénales, C. Pouteil-Noble confirme cette hypothèse et trouve là un argument pour traiter systématiquement des infections à CMV et diminuer l'incidence du rejet(7).

III.3 Les complications néoplasiques

La fréquence des tumeurs est très élevée après la greffe du fait de l'inhibition des fonctions des LT chargés, entre autre, de détruire les cellules cancéreuses. Le risque de cancer est 100 fois plus élevé chez les transplantés que dans la population générale en raison de ce déficit immunitaire et ce risque augmente avec le temps et la durée du traitement immunosuppresseur. Les cancers dont l'incidence est très augmentée sont : les cancers cutanés dont la fréquence est progressivement croissante dans la deuxième décennie suivant la greffe ; les sarcomes de Kaposi et les lymphomes. L'incidence des autres cancers est variable : augmentée par rapport à la population générale (greffe rénale) ou comparable (greffe de poumon, de prostate, de colon ou d'utérus).

PARTIE II : LES IMMUNOSUPPRESSEURS

I. PRINCIPE DES TRAITEMENTS IMMUNOSUPPRESSEURS

Les immunosuppresseurs ont pour principales cibles les molécules impliquées dans l'activation et la prolifération lymphocytaire. Ils peuvent agir selon trois niveaux d'action résumés dans la figure 4 :

* le premier niveau d'action est l'inhibition de la transcription des cytokines et le blocage du passage de la phase G0 à la phase G1 du cycle cellulaire. Il s'agit principalement des inhibiteurs de la calcineurine : la ciclosporine et le tacrolimus.

* le deuxième niveau d'action est l'inhibition de l'action des cytokines avant ou après leur fixation sur leur récepteur. Ce sont les inhibiteurs de la mTOR (le sirolimus et l'évérolimus) et les Ac anti-récepteurs de l'interleukine-2.

* le troisième niveau correspond à la réduction du nombre de lymphocytes circulants à l'aide d'Ac anti-lymphocytaires et/ou à l'inhibition de leur prolifération grâce aux antimétabolites comme l'acide mycophénolique (AMP), un inhibiteur de l'inosine monophosphate déshydrogénase (IMPDH) qui se place comme une alternative plus puissante que l'azathioprine.

En l'absence de traitement immunosuppresseur, le rejet d'un organe allogénique est inéluctable. Le véritable enjeu du traitement est de donner une dose adéquate de façon à prévenir le rejet tout en évitant les complications infectieuses et néoplasiques liées à un excès d'immunosuppression.

Les protocoles d'immunosuppression sont très variés et sont adaptés au risque immunologique, à l'âge du receveur, à la qualité du greffon et au risque infectieux. D'une manière générale, les immunosuppresseurs sont utilisés en association, en traitement d'attaque ou d'induction au cours des deux premières semaines puis en traitement d'entretien à des doses moins importantes. Le traitement d'induction permet de renforcer l'immunosuppression au cours des premières semaines après la greffe où le risque de rejet est le plus élevé. Les produits utilisés sont le plus souvent des Ac polyclonaux ou monoclonaux de type anti-IL2R.

Ensuite, l'objectif du traitement d'entretien est de favoriser une survie maximale du greffon avec la plus faible iatrogénie possible. Le schéma le plus classique associe un agent anti-calcineurine (tacrolimus ou ciclosporine), un anti-prolifératif (AMP ou azathioprine) et des corticoïdes. Les stratégies actuelles essaient de limiter voire d'arrêter l'utilisation des corticoïdes, et de diminuer celle des anti-calcineurine.

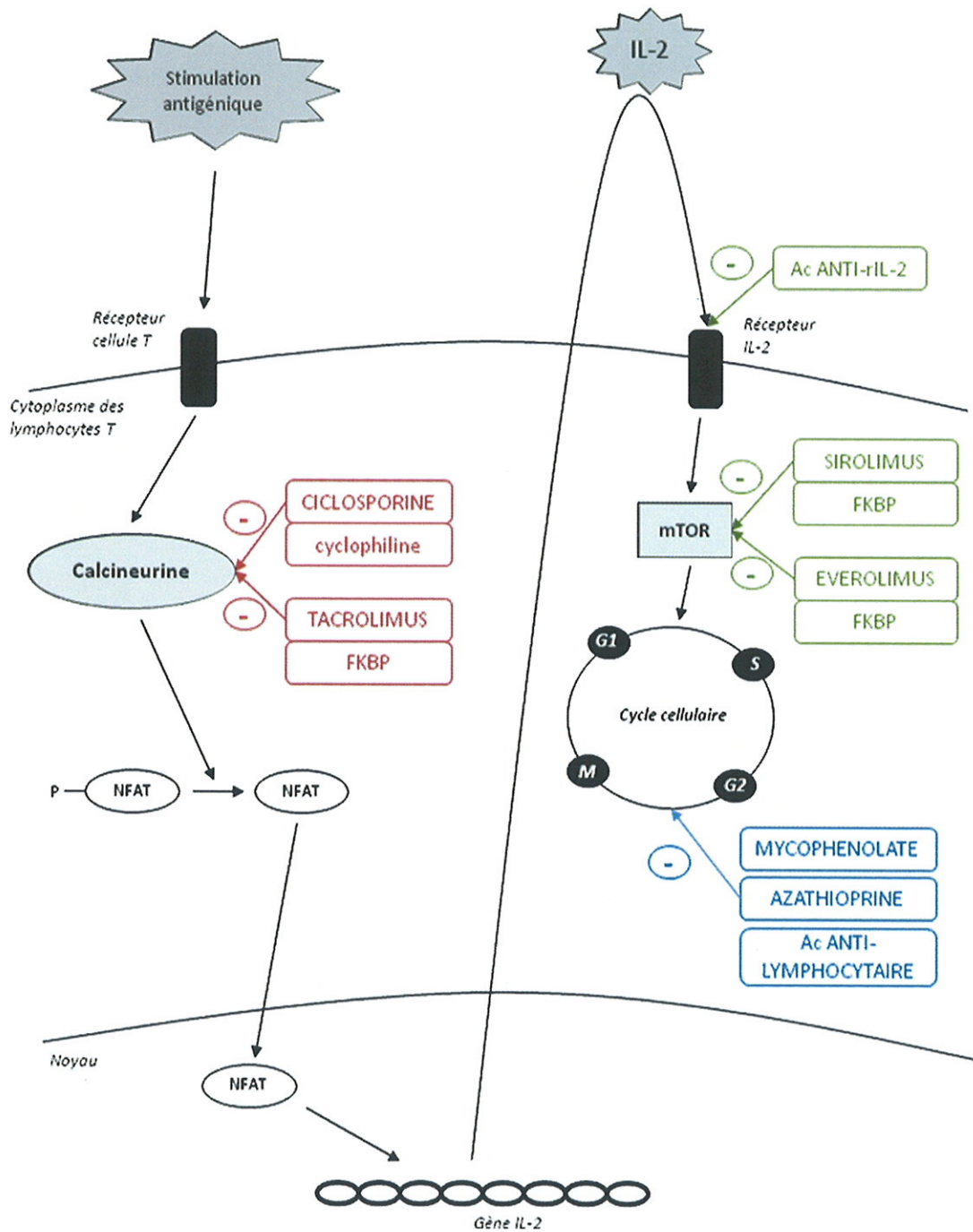


Figure 4 : Cibles cellulaires des différents immunosuppresseurs.

II. LES INHIBITEURS DE LA CALCINEURINE

La calcineurine ou phosphatase 2B est une phosphatase calcium et calmoduline dépendante qui catalyse la déphosphorylation de la sérine et de la thréonine. Elle intervient entre autre dans l'activation et la prolifération des LT en induisant la translocation nucléaire du facteur de transcription NFAT. Une fois dans le noyau, NFAT active la transcription des gènes codant pour les cytokines de la réponse immunitaire, principalement IL-2 (figure 5). Celle-ci a pour principaux effets : la régulation positive de l'expression des récepteurs membranaires à IL-2, la stimulation de la synthèse et de la sécrétion des autres cytokines, l'expansion clonale des cellules T exprimant les marqueurs CD4 et CD8 et la stimulation des LB et des monocytes (8,9).

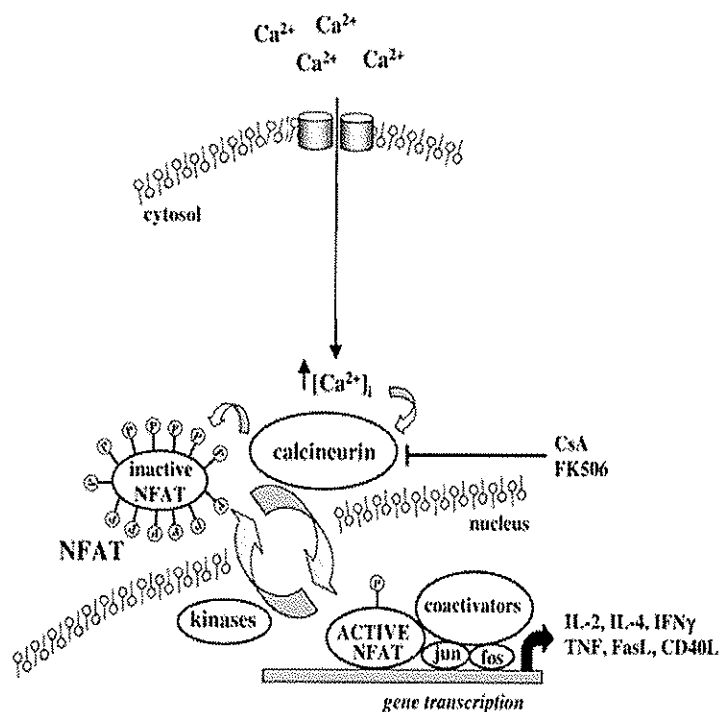


Figure 5 : Voies de signalisation de la calcineurine (10).

La ciclosporine A et le tacrolimus sont tous deux des inhibiteurs de la calcineurine. Une fois administrés, ils traversent la membrane cellulaire et forment un complexe avec un récepteur intra-cytoplasmique spécifique, la cyclophiline pour la ciclosporine et la FK-binding protein pour le tacrolimus. Le complexe formé se lie ensuite à la calcineurine et inhibe son activité phosphatase. Cette inhibition bloque entre autre la synthèse d'IL-2 et donc la prolifération et la différenciation lymphocytaire.

II.1 La ciclosporine A : SANDIMMUN® ; NEORAL®

La ciclosporine est un polypeptide polycyclique de 11 acides aminés d'origine fongique (figure 6). Elle a été isolée en 1970 du champignon *Tylopocladium inflatum* à partir d'un échantillon de terre recueilli dans le cadre de recherche sur les antibiotiques. Ses propriétés immunosuppressives ont été mises en évidence deux ans plus tard par le Dr J.F. Borel au sein des laboratoires Sandoz. Les premiers travaux réalisés chez la souris ont alors montré son effet modulateur sur l'immunité humorale et la suppression des réactions locales du greffon contre l'hôte et de l'hôte contre le greffon.

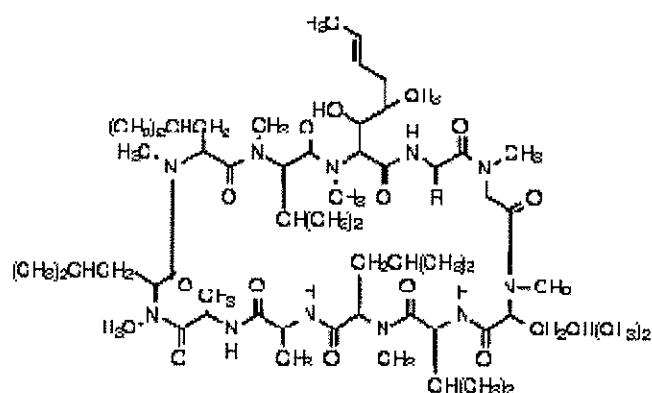


Figure 6 : Formule développée de la ciclosporine A.

La ciclosporine est un immunosuppresseur sélectif et puissant qui inhibe la réponse immunitaire secondaire aux stimuli antigéniques. Elle n'est pas lymphotoxique et son activité inhibitrice est réversible et dépendante de la concentration(11). En 1984, les laboratoires Sandoz (Novartis aujourd'hui) l'ont commercialisé dans la spécialité Sandimmun®, puis en 1999 sous forme micro-émulsionnée dans la spécialité Neoral® afin d'améliorer la faible biodisponibilité et de diminuer la variabilité de l'absorption. Ces deux spécialités sont inscrites sur la liste I des médicaments et sont soumis à une prescription initiale hospitalière.

II.1.1 Indications

La ciclosporine est indiquée en prévention et dans le traitement du rejet du greffon au cours des greffes d'organes, de tissu et de moelle osseuse.

Elle est également indiquée en deuxième intention dans le traitement des syndromes néphrotiques cortico-dépendants et cortico-résistants avec présence de lésions glomérulaires minimes ou de hyalinoses segmentaires et focales primitives.

Enfin, la ciclosporine peut aussi être administrée en cas d'aplasie médullaire sévère ainsi que dans différentes pathologies auto-immunes ou inflammatoires notamment dans les formes sévères de psoriasis, de dermatite atopique ou de polyarthrite rhumatoïde.

L'administration doit se faire en deux doses quotidiennes avec un contrôle régulier de la créatinine plasmatique et de la pression artérielle. Le Suivi Thérapeutique Pharmacologique (STP) c'est-à-dire l'ajustement de la posologie par dosage des concentrations sanguines est obligatoire (12).

II.1.2 Pharmacocinétique

La pharmacocinétique de la ciclosporine est complexe et sujette à des variations intra- et interindividuelles importantes. La différence entre Sandimmun[®] et Neoral[®] ne s'exprime que sur l'étape d'absorption. Pour chacune de ces spécialités, la solution buvable et les formes sèches orales sont bioéquivalentes.

II.1.2.1 Absorption et biodisponibilité

L'absorption de la ciclosporine se fait dans la partie supérieure de l'intestin grêle (duodénum et jéjunum) ; elle est lente, incomplète et très variable selon les individus. La mise au point de la forme microémulsionnée Neoral[®] a cependant permis d'améliorer cette phase d'absorption digestive et surtout de réduire la variabilité interindividuelle.

	SANDIMMUN [®]	NEORAL [®]
<u>Biodisponibilité absolue (%)</u>	10 à 60*	40 [□]
<u>C_m (h)</u>	1 à 8**	1 à 2 [□]

*(13) ; **(14) ; □(15)

La faible absorption de Sandimmun[®] peut s'expliquer par la présence nécessaire d'une grande quantité de sels biliaires dans le tube digestif pour former des micelles avec la suspension et permettre le passage de la barrière intestinale. De plus, pour les deux formes galéniques, l'absorption est influencée par l'activité importante de la protéine de transport P-gp ainsi que

par un important effet de premier passage hépatique et intestinal qui diminuent la biodisponibilité. On estime que 15 à 30% de la dose de ciclosporine administrée seraient métabolisés par l'effet de premier passage hépatique avant d'atteindre la circulation systémique (16).

II.1.2.2 Distribution

Au niveau sanguin, la ciclosporine se distribue entre les érythrocytes (50 à 60%), les lymphocytes et polynucléaires (10%) et le plasma (30%). Au niveau plasmatique, 90% de la ciclosporine est étroitement liée aux lipoprotéines et 5% aux autres protéines, dont l'albumine principalement. Il ne reste donc dans le plasma qu'une faible fraction sous forme libre qui varie beaucoup selon les individus (17).

Le volume apparent de distribution est de 4 à 8 l/kg (11,17). Il est lié au caractère très lipophile de la molécule qui, mis à part une séquestration dans les hématies, est largement distribué dans l'espace extravasculaire et notamment dans les territoires lipophiles. La ciclosporine passe la barrière foeto-placentaire et se retrouve dans le lait maternel.

II.1.2.3 Métabolisme

Le métabolisme de la ciclosporine met essentiellement en jeu les enzymes du cytochrome P450 3A4 situées au niveau hépatique et intestinal (18). Cependant, les isoformes 3A5, exprimées sous forme fonctionnelle au niveau hépatique chez 10 à 30% des caucasiens, semblent également y participer (19). Le métabolisme consiste en des mono et di-hydroxylations, des n-déméthylations et des cyclisations de certains amino-acides (8). Le nombre exact de métabolites de la ciclosporine est incertain. Certains travaux rapportent jusqu'à 30 composés (20). A ce jour, 12 ont été identifiés (21). Il ne semble pas exister de voie majeure pour ce métabolisme et le potentiel immunosuppresseur des métabolites est faible.

II.1.2.4 Elimination

La ciclosporine est éliminée essentiellement par voie biliaire, sous forme de métabolites. Seuls 6% de la dose administrée par voie orale sont excrétés dans les urines, dont 0,1% sous forme inchangée. La clairance sanguine totale est d'environ 36 L/h.

L'élimination plasmatique est biphasique avec une première demi-vie de 1 à 2H et une demi-vie terminale de l'ordre de 8h pour la forme Neoral[®] et 19h pour le Sandimmun[®].

II.1.3 Effets indésirables

La ciclosporine est susceptible d'induire de nombreux effets secondaires qui sont généralement dose-dépendants et qui régressent après diminution de la posologie. La néphrotoxicité et l'hypertension artérielle sont de loin les effets indésirables les plus fréquents (respectivement 57% et 53%) (22).

La toxicité rénale se traduit par une insuffisance rénale qui peut être de deux types :

- une dysfonction rénale aiguë, réversible et dose-dépendante, qui semble être liée à une modification fonctionnelle hémodynamique intra-rénale, caractérisée par une vasoconstriction à prédominance préglomérulaire (23),
- un syndrome de néphrotoxicité chronique à l'origine d'une atteinte histologique avec une fibrose interstitielle, une atrophie tubulaire et des lésions vasculaires.

L'hypertension artérielle apparaît dès les premières semaines de traitement. Elle semble être due à une perturbation des mécanismes régulateurs du volume extracellulaire et des résistances périphériques.

D'autres effets indésirables peuvent également être rencontrés au cours du traitement :

- une hypertrichose,
- des troubles hépatiques (élévation de la bilirubine plasmatique, des sels biliaries, des transaminases et des gamma-glutamyltransférases),
- des troubles neurologiques mineurs (tremblements des extrémités, paresthésies),
- une hypertrophie gingivale,
- des hyperlipidémies avec augmentation du cholestérol total et des LDL,
- des troubles gastro-intestinaux (anorexie, nausées, vomissements, diarrhées).

En dernier lieu, la ciclosporine est associée à un risque élevé de développer des tumeurs malignes, aux mêmes titres que les autres immunosuppresseurs, avec une fréquence et une distribution comparables.

II.1.4 Interactions médicamenteuses

La biotransformation hépatique est une cible privilégiée des principales interactions médicamenteuses. Deux phénomènes peuvent modifier les concentrations sanguines de ciclosporine et donc influencer son efficacité:

- l'induction du cytochrome P450 qui accroît l'élimination hépatobiliaire et entraîne ainsi une diminution des concentrations sanguines et donc une diminution de l'efficacité du traitement,

- l'inhibition du cytochrome P450 qui entraîne à l'inverse une diminution de l'élimination de la ciclosporine et donc augmente les risques de surdosage et d'apparition des effets indésirables.

L'association de la ciclosporine avec les principaux inducteurs et inhibiteurs enzymatiques est donc à surveiller. Seule la prise de millepertuis est contre-indiquée.

La ciclosporine peut également influencer la concentration de certains médicaments associés, le plus souvent par inhibition de leur métabolisme. Elle augmente ainsi le risque d'apparition des effets indésirables de ces médicaments, qui peuvent dans certains cas potentialiser ceux de la ciclosporine elle-même (tableau 3) (12).

Tableau 3 : Principales interactions médicamenteuses de la ciclosporine.

EFFETS DE LA CICLOSPORINE SUR LES MEDICAMENTS ASSOCIES	
↗	bosentan - rosuvastatine (CI)
↗	colchicine - statines - methotrexate - lercanidipine (PE)
POTENTIALISATION DES EFFETS TOXIQUES	
<u>Hyperkaliémie</u> :	Sels de potassium ; diurétiques épargneurs de potassium (AD)
<u>Gingivopathie</u> :	Nifédipine (AD)
<u>Néphrotoxicité</u> :	AINS ; amphotéricine B (APC)
<u>Immunodépression</u> :	Azathioprine ; cytotoxiques ; globulines antilymphocytaires (APC)

CI : contre-indication ; PE : précaution d'emploi ; AD : association déconseillée ; APC : association à prendre en compte

II.2 Le Tacrolimus : PROGRAF®

Le tacrolimus ou FK506 est un macrolide isolé de culture du champignon *Streptomyces tsukubaensis* en 1984 par les laboratoires Fujisawa. Il présente une structure cyclique qui rappelle celle des macrolides (figure 7) (24).

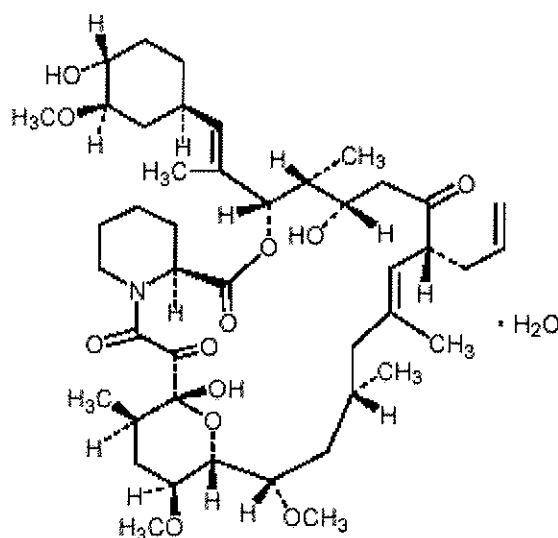


Figure 7 : Formule développée du tacrolimus.

En 1989, Thomas Starlz a mis en évidence l'efficacité du tacrolimus dans la prévention du rejet chez des patients ayant subi une greffe hépatique (25). Par la suite, son efficacité comme traitement alternatif chez des patients recevant de la ciclosporine et présentant un rejet réfractaire aux traitements usuels a été démontrée dans la greffe rénale et hépatique (26). En 1994 la FDA a approuvé l'utilisation du tacrolimus dans la prévention du rejet de greffe hépatique puis a étendue l'indication à la greffe rénale.

Le tacrolimus est commercialisé dans la spécialité Prograf®, utilisée en transplantation et dans la spécialité Protopic®, utilisée en dermatologie comme traitement de deuxième intention de la dermatite atopique modérée à sévère. Les deux spécialités sont inscrites sur la liste I des médicaments et le Prograf® nécessite une prescription initiale hospitalière.

II.2.1 Indications

Prograf® est indiquée dans la prévention du rejet du greffon au décours de la transplantation rénale et hépatique ainsi que dans le traitement du rejet rebelle cortico-résistant (12).

L'administration doit se faire en deux prises quotidiennes et, comme pour la ciclosporine, la posologie doit être adaptée en fonction de la concentration sanguine résiduelle (STP) (12).

II.2.2 Pharmacocinétique

La cinétique du tacrolimus est proche de celle de la ciclosporine. Il s'agit d'une molécule lipophile, à faible biodisponibilité, métabolisée principalement par le foie et dont la pharmacocinétique présente une très grande variabilité inter- et intra-individuelle.

II.2.2.1 Absorption et biodisponibilité

L'absorption se fait principalement dans le duodénum et le jéjunum. Elle est rapide, avec un pic plasmatique atteint en 30 à 60 minutes (27) mais incomplète et très variable. Un effet de premier passage hépatique est observé mais son intensité n'est pas connue.

La biodisponibilité orale du tacrolimus est faible, en moyenne 20% chez les transplantés rénaux ou hépatiques et légèrement plus faible chez les volontaires sains. De nombreux facteurs interfèrent avec la biodisponibilité comme le régime alimentaire et notamment les graisses qui diminuent l'absorption d'environ 25% (27).

II.2.2.2 Distribution

Le volume de distribution est très élevé, en moyenne 1.41 l/kg chez le transplanté rénal et 0.85 L/kg chez le transplanté hépatique.

Le tacrolimus se lie fortement aux globules rouges et les concentrations intra-érythrocytaires sont significativement plus importantes (environ 20 fois) que les concentrations plasmatiques. Au niveau plasmatique le tacrolimus est essentiellement lié à l' α_1 -glycoprotéine acide et à l'albumine. De part sa grande lipophilie le tacrolimus se distribue surtout dans les lipides. Les concentrations dans les poumons, la rate, le cœur, les reins et le pancréas après l'équilibre de distribution sont nettement supérieures aux concentrations plasmatiques ce qui indique une grande affinité tissulaire. Il passe également la barrière foeto-placentaire (27).

II.2.2.3 Métabolisme

Le tacrolimus subit un métabolisme très important, essentiellement hépatique (plus de 98% de la dose) ce qui explique la faible biodisponibilité. Les enzymes impliquées sont celles du cytochrome P450 3A4 qui conduisent à la formation de métabolites déméthylés et hydroxylés et dont l'activité *in vivo* n'est pas connue. Le principal métabolite est le 13-déméthyl-tacrolimus (27).

II.2.2.4 Excrétion

La clairance totale déterminée à partir des concentrations sanguines est d'environ 2 l/h chez le volontaire sain ; 4 l/h chez le transplanté hépatique et 6.5 l/h chez le transplanté rénal.

La demi-vie d'élimination est longue et présente une grande variabilité interindividuelle : environ 30h chez le volontaire sain ; 12h chez l'adulte transplanté hépatique et 20h chez le transplanté rénal.

Le tacrolimus est éliminé essentiellement par voie biliaire dans les fèces sous forme de métabolites hydroxylés. Moins de 1% de la molécule est éliminé sous forme inchangée dans l'urine (27).

II.2.3 Effets indésirables

Le tacrolimus induit de nombreux effets secondaires qui sont généralement dose-dépendants et qui régressent après diminution de la posologie (12). Comme avec d'autres immunosuppresseurs puissants, les patients sous tacrolimus présentent une sensibilité accrue aux infections (virales, bactériennes, fongiques). Les effets indésirables les plus fréquemment observés sont :

- Des troubles du système nerveux central (tremblements, céphalées, insomnies, paresthésies),
- Une atteinte précoce de la fonction rénale chez près de 35% de transplantés hépatiques, avec élévation de la créatininémie, diminution de la diurèse et parfois hématurie. Des cas de syndrome urémique hémolytique ou d'insuffisance rénale chronique ont également été décrits, ainsi que des lésions histologiques comparables à celles observées avec la ciclosporine,
- Une hypertension artérielle modérée, retrouvée dans environ 40% des cas,

- Des troubles électrolytiques et métaboliques (hyperglycémie, diabète sucré, hyperkaliémie),
- Des troubles gastro-intestinaux (nausées, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales).

Des cas de lymphomes lymphoprolifératifs ont également été rapportés, notamment des syndromes Epstein-Bar, induits après transplantation hépatique pédiatrique et avec une incidence accrue par rapport à la ciclosporine.

Le tableau 5 regroupe les principaux effets indésirables du tacrolimus, comparés à ceux de la ciclosporine.

II.2.4 Interactions médicamenteuses

Comme pour la ciclosporine, les concentrations de tacrolimus sont influencées par la prise de substances qui inhibent ou induisent le cytochrome P450. Il est donc nécessaire de surveiller les associations avec les principaux inducteurs et inhibiteurs enzymatiques.

L'association avec certains médicaments peut également potentialiser les effets indésirables du tacrolimus : les sels de potassium et les diurétiques épargneurs de potassium augmentent le risque d'hyperkaliémie ; la ciclosporine (CI), le melphalan, les AINS, l'amphotéricine B et les aminosides augmentent la néphrotoxicité (12).

III. LES INHIBITEURS DE LA MTOR

Le sirolimus ou rapamycine et son dérivé hydroxylé l'évérolimus inhibent la prolifération d'une grande variété de types cellulaires en inhibant la synthèse protéique et plus précisément l'étape d'initiation de la traduction. Avec une structure proche de celle du tacrolimus, ils forment un complexe avec la même protéine de liaison, la FKBP12 mais ce complexe n'inhibe pas la calcineurine mais une protéine appelée mTOR (*mammalian Target Of Rapamycin*).

*** LA mTOR**

La protéine mTOR est une sérine-thréonine kinase au centre d'une voie de signalisation intracellulaire complexe impliquée dans un grand nombre de processus physiologiques comme la croissance, la prolifération ou le métabolisme cellulaire. Initialement identifiée chez

la levure au cours des études menées pour comprendre les mécanismes d'action de la rapamycine, elle a conservé son rôle et sa structure au cours de l'évolution et a par la suite été identifiée chez l'homme (28,29). Son activité est sous le contrôle de deux signaux fondamentaux dans la régulation du cycle cellulaire : l'insuline et les facteurs de croissance d'action analogue, et les nutriments comme les acides aminés et le glucose.

En aval, la protéine mTOR contrôle l'appareil traductionnel en activant la p70 S6 kinase (p70^{S6k}) et en inhibant la molécule 4E-BP1, inhibitrice de eIF-4E, toutes deux impliquées dans le contrôle de la traduction d'ARN messagers spécifiques et la synthèse des protéines nécessaires à la progression et à la régulation du cycle cellulaire (30). Lorsqu'elle est activée par phosphorylation, la p70^{S6k} phosphoryle la protéine ribosomale S6 qui stimule alors la traduction d'ARNm spécifiques codant pour des protéines ribosomales et des composants de l'appareil traductionnel. La molécule 4E-BP1 est une petite protéine qui, sous forme déphosphorylée, séquestre le facteur d'initiation eIF-4E et bloque ainsi le début de la traduction induit par la forme libre de ce facteur. La phosphorylation de 4E-BP1 par la mTOR libère le facteur eIF-4E et met ainsi en route la traduction des ARNm (figure 8). La rapamycine, en inactivant mTOR, est donc responsable d'une importante diminution de l'activité traductionnelle. Elle cause également l'arrêt du cycle cellulaire en phase G1.

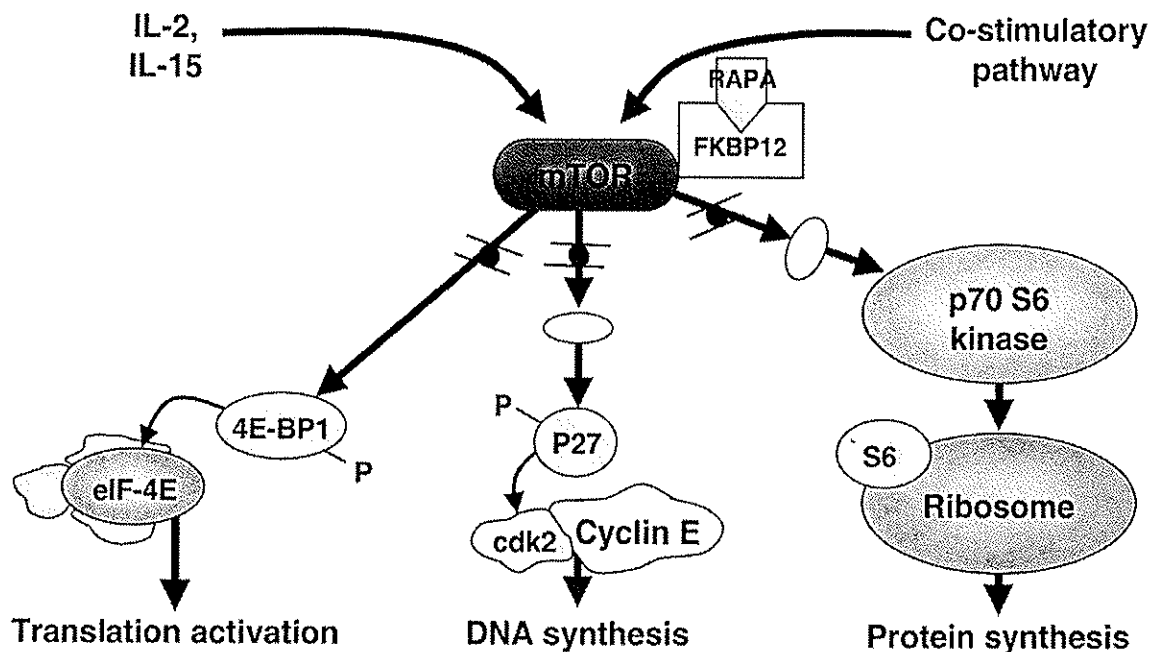


Figure 8 : Voies de signalisation de la protéine mTOR (31).

* LE SIROLIMUS : RAPAMUNE®

Le sirolimus, dans un premier temps appelé rapamycine, est un macrolide cyclique synthétisé par le champignon *Streptomyces hygroscopicus*, découvert au début des années 1970 dans le sol de l'île de Pâques au cours d'un programme de recherche de nouveaux agents antifongiques (figure 9A). En plus de ses propriétés antibiotiques et antifongiques rapidement reconnues, les études suivantes ont révélé des propriétés antiprolifératives puis plus tardivement des propriétés immunosuppressives. Il a alors fallu plusieurs années pour élucider son mécanisme d'action qui a permis de découvrir la voie de signalisation impliquant la mTOR et ainsi de mieux comprendre les phénomènes immunologiques au cours de la transplantation (32).

* L'EVEROLIMUS : CERTICAN®

L'évérolimus est un dérivé du sirolimus qui possède un groupement stable 2-hydroxy-éthyl en position 40 et présente donc une meilleure polarité (figure 9B). L'évérolimus a été développé dans le but d'améliorer la pharmacocinétique du sirolimus et en particulier d'augmenter sa biodisponibilité orale. Il possède le même mécanisme d'action que le sirolimus (32).

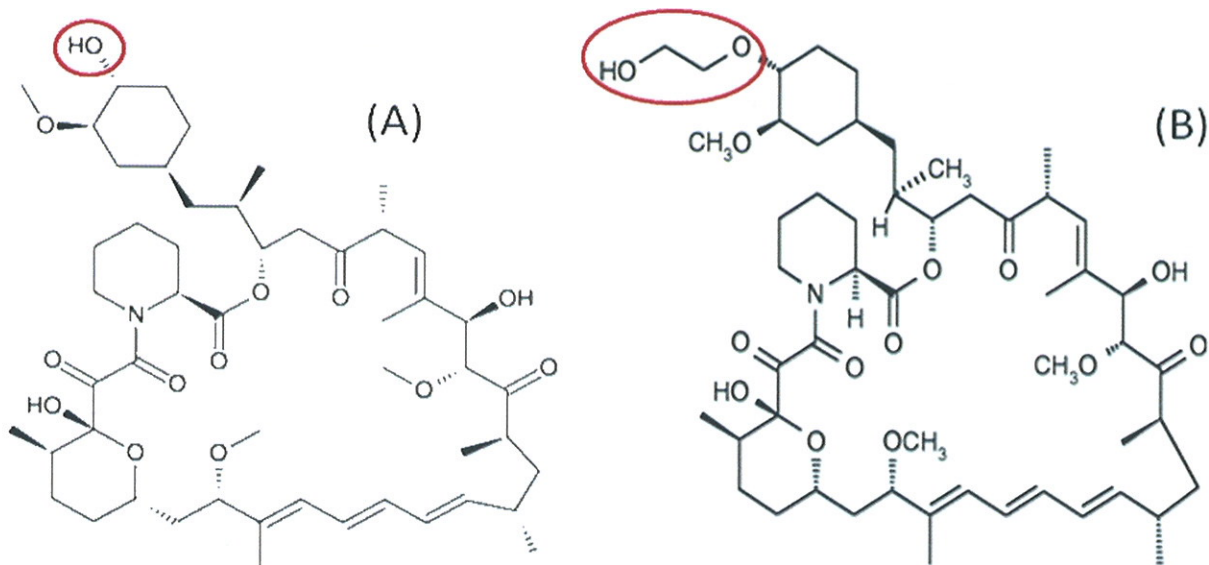


Figure 9: Formules développées du sirolimus (A) et de l'évérolimus (B).

Le sirolimus est commercialisé sous le nom de spécialité Rapamune® et l'évérolimus dans la spécialité Certican®. Ils sont tous deux inscrits sur la liste I des médicaments et soumis à une prescription initiale hospitalière de 6 mois.

III.1 Indications

Rapamune® et Certican® sont indiqués en prévention du rejet d'organe chez les patients adultes présentant un risque immunologique faible à modéré recevant une transplantation rénale. Certican® peut également être utilisé en transplantation cardiaque. Alors que l'association sirolimus-ciclosporine est déconseillée car elle augmente la néphrotoxicité de cette dernière, l'évérolimus peut être utilisé avec de faibles doses de ciclosporine et semble moins aggraver la néphrotoxicité que le sirolimus. Dans les deux cas, le traitement doit être associé à des corticoïdes. L'expérience est insuffisante pour recommander l'utilisation du sirolimus et de l'évérolimus chez les enfants et adolescents (<18ans) et les données pharmacocinétiques sont limitées.

III.2 Pharmacocinétique

III.2.1 Pharmacocinétique du sirolimus

Après administration orale, le sirolimus est rapidement absorbé au niveau intestinal avec une concentration maximale atteinte en 2 heures en moyenne. La biodisponibilité orale du sirolimus est faible et n'est estimée qu'à 15% en raison d'une métabolisation intestinale et hépatique importante. L'absorption est influencée par la teneur en graisse de l'alimentation: la prise de sirolimus au cours d'un repas riche en graisses ralentit son absorption mais augmente son exposition (33).

Le volume de distribution du sirolimus est estimé à 12 l/kg, ce qui indique une large distribution au niveau des membranes lipidiques des tissus. Dans le sang, 95% de la drogue est distribué dans les érythrocytes, 1% dans les lymphocytes et 1% dans les granulocytes. Parmi les 3% de la fraction plasmatique, 2.5% se trouve sous forme libre et le reste est lié aux lipoprotéines (33).

Le sirolimus est principalement métabolisé par les enzymes hépatiques et intestinales du cytochrome P450 3A en une dizaine de métabolites principalement déméthylés et hydroxylés (figure 12) (33). Le CYP 2C8 semble également être impliqué dans la formation de certains métabolites (34). Pour les métabolites qui ont été étudiés, l'activité immunosuppressive est faible et n'excède pas 10% de celle du produit parent (33).

Enfin le sirolimus est principalement éliminé par voie fécale (91%), seule une faible proportion est retrouvée dans les urines (2%). La longue $\frac{1}{2}$ vie d'élimination, environ 62 heures, est très variable selon les individus mais permet la prise d'une seule dose quotidienne. La clairance est également soumise à une forte variabilité interindividuelle : 1.45 à 6.93 ml/min/kg (33).

III.2.2 Pharmacocinétique de l'évérolimus

Malgré une polarité plus importante, la biodisponibilité de l'évérolimus est similaire à celle du SRL. La phase d'absorption est cependant plus rapide puisque les concentrations sanguines maximales sont atteintes environ 1.5 heure après administration orale (35).

La distribution de l'évérolimus dans les tissus humains n'est pas connue (35). Aux concentrations thérapeutiques, 75% de la drogue est distribuée dans les érythrocytes et environ 75% de la fraction plasmatique est lié aux protéines plasmatiques (35).

Le profil métabolique de l'évérolimus est similaire à celui du SRL. Les mêmes métabolites mono- ou dihydroxylés et déméthylés sont produits par les CYP3A4, 3A5 et 2C8 au niveau hépatique et intestinal (35).

Selon les études, des $\frac{1}{2}$ vies d'élimination de 16 à 19 heures et de 24 à 35 heures ont été rapportées pour l'évérolimus chez des patients transplantés rénaux. Cette $\frac{1}{2}$ vie, plus courte que celle du SRL, nécessite la prise du médicament deux fois par jour. L'élimination se fait à 98% dans la bile sous forme de métabolites. Seulement 2% du produit parent est retrouvé dans les urines (35).

III.3 Effets indésirables

Les essais cliniques ont mis en évidence des effets secondaires similaires avec le sirolimus (33) et l'évérolimus (35).

Les effets secondaires les plus fréquemment observés sont :

- une protéinurie,
- des troubles des lignées sanguines (anémie, leucopénie, thrombocytopénie),
- des troubles du métabolisme (hyperlipidémie, hypercholestérolémie, hypertriglycéridémie),
- des troubles gastro-intestinaux (aphtes, douleurs abdominales, diarrhées).

Il existe également des troubles généraux souvent observés : des infections (virales, bactériennes et fongiques), des œdèmes périphériques, des lymphocèles et des phénomènes de cicatrisations anormales.

L'association sirolimus-ciclosporine induit des troubles lipidiques et hématologiques plus marqués que lorsque les deux médicaments sont pris séparément, en raison d'un effet pharmacodynamique additif. De plus le sirolimus exacerbe la néphrotoxicité et l'hypertension induites par la ciclosporine par le biais d'une interaction cinétique qui augmente les concentrations sanguines de la ciclosporine, en particulier au niveau rénal (36).

III.4 Interactions médicamenteuses

Comme les inhibiteurs de la calcineurine, les inhibiteurs de la mTOR sont des substrats du CYP3A4 et de la P-gp, par conséquent leur pharmacocinétique peut être influencée par les substances qui agissent sur ces protéines. La co-administration du sirolimus et de l'évérolimus avec les principaux inducteurs et inhibiteurs du CYP3A4 n'est donc pas recommandée.

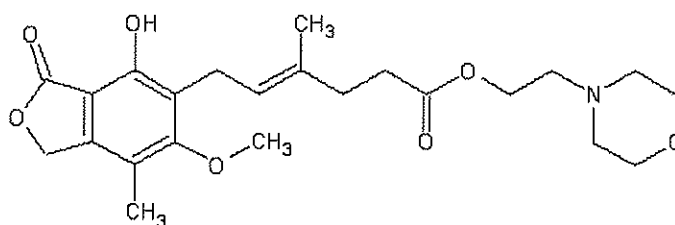
L'association du sirolimus avec la ciclosporine doit être surveillée en raison de la compétition qui existe entre ces deux molécules au niveau du CYP3A4 et de la P-gp et qui augmente la biodisponibilité des deux médicaments lorsqu'ils sont pris en même temps avec un risque accru de surdosage et d'apparition d'effets secondaires. Le sirolimus augmente également les concentrations sanguines du vérapamil et de l'érythromycine et diminue l'efficacité des vaccins (12).

IV. L'ACIDE MYCOPHENOLIQUE

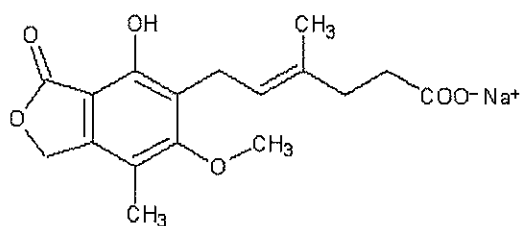
L'acide mycophénolique (AMP) est un produit de fermentation issu de plusieurs souches de *Penicillium* découvert à la fin du 19^e siècle. Il s'agit d'un inhibiteur réversible et non compétitif de l'inosine monophosphate déshydrogénase (IMPDH) qui intervient dans la synthèse *de novo* des nucléotides puriques.

Après la mise en évidence de son activité sur l'IMPDH en 1969, l'AMP a été développé et mis sur le marché comme agent immunosuppresseur dans la classe des antimétabolites, au même titre que l'azathioprine mais avec une meilleure sélectivité vis-à-vis des lymphocytes (12,37).

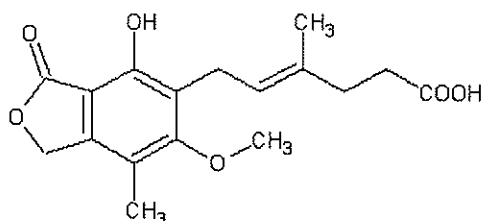
Deux spécialités existent aujourd'hui : le Cellcept® qui est une prodrogue de l'AMP, il s'agit du mycophénolate mofétil (MMF) ou morpholinoéthyl-ester de l'AMP qui est rapidement hydrolysé en AMP dans l'estomac et le Myfortic® qui est une forme gastro-résistante du mycophénolate sodique, développée dans le but d'offrir une meilleure tolérance gastro-intestinale (figure 10).



Mycophénolate mofétil (MMF)



Mycophénolate sodique



Acide mycophénolique (AMP)

Figure 10 : Structure chimique du mycophénolate mofétil, du mycophénolate sodique et de l'acide mycophénolique.

IV.1 Mécanisme d'action

L'AMP est un inhibiteur puissant, sélectif et réversible de l'IMPDH, une enzyme essentielle dans la voie de synthèse *de novo* des nucléotides puriques (38). Elle catalyse la réaction de transformation de l'IMP (Inosine Monophosphate) en GMP (Guanosine Monophosphate), substrat essentiel pour la synthèse de l'ADN et de l'ARN. Il existe deux voies de synthèse des nucléotides puriques: la voie *de novo* et la voie dite de sauvetage (figure 11) :

- la voie de sauvetage utilise les bases puriques (adénine et guanine) provenant de la dégradation des acides nucléiques;
- la voie *de novo* utilise un précurseur, le 5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate, qui permet la synthèse de l'IMP, transformée ensuite soit en AMP soit en GMP.

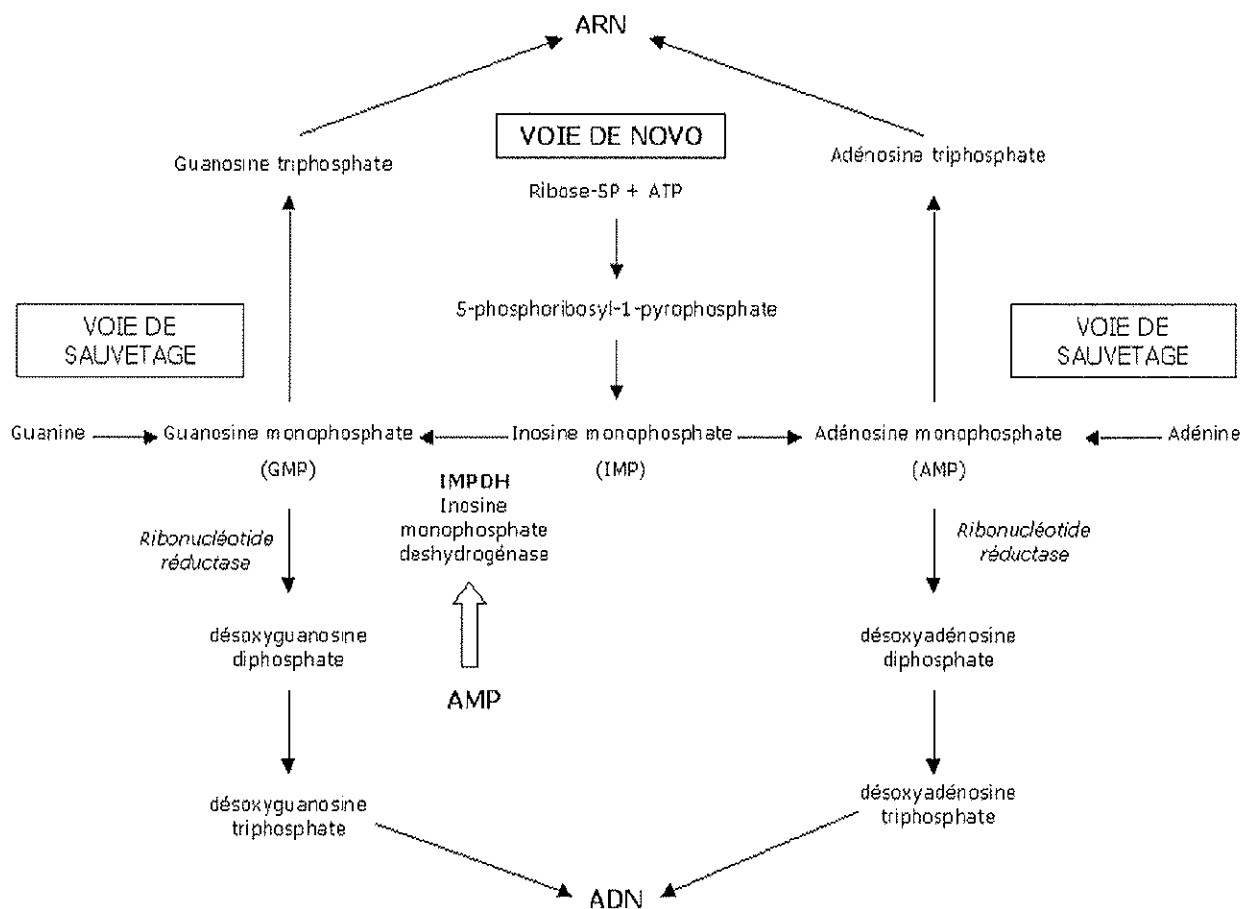


Figure 11 : Schéma des voies de synthèse des bases puriques (38).

Contrairement à d'autres types de cellules pouvant recourir à l'une ou à l'autre des ces voies, les LT et le LB utilisent préférentiellement la voie *de novo* pour la synthèse des bases

puriques. De plus l'AMP inhibe préférentiellement l'isoforme 2 de l'IMPDH exprimée sélectivement dans les lymphocytes activés. Il exerce donc spécifiquement son action sur les cellules des lignées lymphocytaires dont il bloque la prolifération à un stade tardif et épargne les autres lignées cellulaires qui peuvent recourir à la voie de sauvetage. A cette inhibition sélective de la prolifération lymphocytaire s'associent d'autres propriétés plus spécifiques comme l'inhibition de la production d'Ac, l'inhibition de la glycosylation, l'inhibition de l'expression des molécules d'adhésion et l'inhibition de la prolifération des cellules musculaires lisses (38).

IV.2 Indications

Cellcept® et Myfortic® sont indiqués, en association avec la ciclosporine et les corticoïdes, dans la prévention des rejets aigus de greffon chez les patients ayant bénéficié d'une allogreffe rénale (Myfortic®) ou d'une allogreffe rénale, hépatique ou cardiaque (Cellcept®).

Hors AMM, Cellcept® est fréquemment administré en association avec le tacrolimus en transplantation rénale et hépatique, l'efficacité de l'association ayant été mise en évidence au cours de plusieurs études (39-41).

Les deux spécialités sont inscrites sur la liste I des médicaments et soumises à une prescription initiale hospitalière de 6 mois.

IV.3 Pharmacocinétique

IV.3.1 Absorption et biodisponibilité

Après administration orale, le MMF est rapidement et en grande partie absorbé, puis transformé en AMP, son métabolite actif, par une métabolisation présystémique complète. L'activité immunosuppressive du Cellcept®, mise en évidence par une diminution du risque de rejet aigu de greffe rénale, est liée à la concentration d'AMP. Après sa prise orale, le MMF n'est pas mesurable dans le plasma et la concentration plasmatique maximale de l'AMP est atteinte en 0.5 à 1h. La biodisponibilité moyenne de l'AMP, évaluée par le ratio des AUC obtenues après administration orale et intraveineuse de MMF est estimée à 94% (37).

IV.3.2 Distribution

Le volume de distribution apparent est d'environ 4 l/kg (37).

Dans le sang, l'AMP est contenu à 99% dans le plasma (37), ce qui fait du plasma le milieu de choix pour le dosage de l'AMP. L'AMP est fortement lié aux protéines plasmatiques et plus particulièrement à l'albumine. Plusieurs facteurs tels que la concentration d'albumine ou la fonction rénale peuvent influencer la liaison de l'AMP aux protéines plasmatiques. Selon une étude réalisée *in vitro* par Nowak et al. seule la fraction libre serait disponible pour inhiber l'IMPDH et serait donc responsable de l'effet pharmacologique du MMF (42).

IV.3.3 Métabolisme

L'AMP est principalement métabolisé au niveau hépatique. Le métabolisme de phase I, minoritaire, fait intervenir principalement les cytochromes P450 3A et 2C et aboutit principalement à la formation du 6-O-desméthyl-AMP (43) dont l'activité n'est pas connue. L'AMP est essentiellement métabolisé par les enzymes de phase II, en particulier les UDP-glucuronyltransférases, qui catalysent la formation de l'AMP- β -phényl-glucuronide (AMPG), métabolite majoritaire inactif et l'AMP-acyl-glucuronide (AMPaG), métabolite minoritaire actif (44,45).

IV.3.4 Elimination

93% de la dose de MMF administrée sont éliminés par voie urinaire, majoritairement sous forme d'AMPG et minoritairement sous forme d'AMP et d'AMPaG. 6% de la dose sont éliminés dans les fèces (37).

Dans l'intestin, l'AMPG est partiellement déconjugué par la flore bactérienne et réabsorbé sous forme d'AMP, donnant lieu à un cycle entéro-hépatique qui se traduit par un phénomène de rebond sur les courbes pharmacocinétiques de l'AMP, 4 à 8h après la prise du médicament (37).

La demi-vie d'élimination est d'environ 17h chez les volontaires sains. Chez ces mêmes patients, la clairance apparente est de 193 ml/min alors qu'elle est comprise entre 132 et 421 ml/min chez des patients greffés rénaux stables (37).

IV.4 Effets indésirables

Contrairement à la ciclosporine et au tacrolimus, l'AMP n'est pas néphrotoxique. Ses effets secondaires sont d'ordre gastro-intestinal et hématologique (12). Les principaux troubles digestifs sont des diarrhées, des nausées, des vomissements et des douleurs abdominales et les atteintes hématologiques prennent le plus souvent la forme de leucopénie, de thrombopénie et d'anémie. Comme avec tout traitement immunosuppresseur, les patients sont exposés à un risque accru de lymphome ou d'autres tumeurs malignes, notamment cutanées. Enfin l'acide mycophénolique est également associé à un risque élevé de développer des problèmes infectieux (infection opportuniste, bactérienne ou virale). Des études récentes semblent montrer une augmentation de l'incidence de maladie à cytomégalovirus chez les transplantés rénaux recevant le MMF (46,47).

IV.5 Interactions médicamenteuses

De par leur propriété antimétabolite commune, l'association du MMF et de l'azathioprine est déconseillée (12).

Le MMF n'est pas sujet à des interactions au niveau des cytochromes en raison de l'absence de relation avec ces derniers. Peu d'interactions médicamenteuses sont recensées et elles ne sont pas considérées comme cliniquement significatives (12). Les principales observations sont :

- une diminution l'absorption du MMF lors de la prise concomitante d'antiacides avec hydroxyde de magnésium et hydroxyde d'aluminium,
- une diminution de l'activité du MMF lors de la prise de médicaments interférant avec le cycle entéro-hépatique (cholestyramine).
- une augmentation des concentrations plasmatiques d'aciclovir et d'AMPG, aussi bien lors de l'administration concomitante que lors de leur administration isolée.

Comme avec les autres immunosuppresseurs, l'association de MMF avec les vaccins, en particulier les vaccins vivants, est potentiellement dangereuse et à prendre en compte en raison d'une diminution de l'efficacité des vaccins.

V. SUIVI THERAPEUTIQUE PHARMACOLOGIQUE

V.1 Généralités

La Société Française de Pharmacologie définit le STP comme l'activité qui consiste à doser les concentrations sanguines d'un médicament et à les interpréter, en fonction du terrain, pour ajuster la dose administrée à chaque individu.

Le STP a deux buts principaux : diminuer le taux d'échec thérapeutique lié à une dose insuffisante et réduire la fréquence des effets indésirables ou toxiques liés à une dose excessive (48).

Un nombre très restreint de médicaments fait l'objet d'un STP systématique. On trouve parmi ces médicaments : des aminosides et glycopeptides, des digitaliques, les principaux anti-arythmiques, quelques épileptiques, des antidépresseurs, des immunosuppresseurs, des anticancéreux et des antirétroviraux, soit moins d'une soixantaine de molécules.

Les principaux critères d'éligibilité au STP d'une molécule sont :

- une fenêtre thérapeutique étroite,
- une réponse pharmacologique difficilement accessible par mesure directe de l'effet,
- une relation concentration-effet pharmacologique meilleure que la relation dose-effet,
- une importante variabilité inter- et intra-individuelle de la relation dose-concentration sanguine,

Le STP peut être réalisé sur la base de la concentration résiduelle (C₀), c'est-à-dire la concentration sanguine du médicament juste avant l'administration suivante ou sur la base d'une concentration sanguine mesurée à un délai post-greffe particulier (par exemple 2 heures après la prise de ciclosporine) qui rend compte de la variabilité interindividuelle de la pharmacocinétique. La posologie est alors adaptée en fonction d'une fenêtre cible de concentration, déterminée pour chaque molécule.

Le STP peut également être réalisé d'après la surface sous la courbe des concentrations en fonction du temps (SSC) entre deux administrations, ce qui semble être le meilleur reflet de l'exposition réelle du patient au médicament. Cependant, cet indice d'exposition nécessite d'effectuer un nombre important de prélèvements sanguins (généralement 8 à 12) qui est inadapté à la pratique clinique courante. Il ne peut donc être utilisé pour un suivi régulier qu'en faisant appel à des stratégies de prélèvements limités (2 à 3 prélèvements) pour estimer l'SSC. Il existe deux méthodes qui permettent d'estimer l'SSC à partir d'un nombre limité de

prélèvements sanguins : une méthode basée sur la régression linéaire multiple et une méthode basée sur l'estimation Bayésienne.

⇒ Régression linéaire multiple

Les équations obtenues par régression linéaire multiple permettent d'évaluer une variable d'exposition (le plus souvent l'SSC) à partir de plusieurs valeurs de concentrations recueillies à des temps de prélèvement particuliers (le plus souvent 2 à 4 prélèvements sanguins collectés dans les 6 heures suivant la prise du médicament). Cette méthode n'a cependant aucun fondement pharmacocinétique ; ces équations résultent uniquement de corrélations entre l'index d'exposition étudié et des concentrations recueillies à des délais post-dose définis. Elles ne permettent pas en particulier de retracer la courbe de concentration en fonction du temps et donc de vérifier visuellement sa pertinence et son adéquation avec les concentrations mesurées, ni de calculer d'autres indices d'exposition (C_{max} , SSC partielles) ou les paramètres pharmacocinétiques individuels (clairance, volume de distribution ...).

⇒ Estimation Bayésienne

L'estimation Bayésienne est une méthode statistique basée sur l'expérience acquise dans une population. Elle permet de déterminer les paramètres pharmacocinétiques et les meilleures doses d'un médicament à administrer à un patient sans avoir besoin d'un nombre élevé de concentration, ce qui rend cette technique appropriée à l'adaptation de posologie en pratique clinique.

Cette méthode combine une information de groupe (information *a priori*) à des informations individuelles (données de concentration). L'information de groupe consiste en la distribution statistique des paramètres pharmacocinétiques (moyenne, écart-type, matrice de variance, covariance) dans une population de patients. Ces paramètres peuvent être obtenus soit par modélisation pharmacocinétique de population, soit par une méthode en deux étapes. Dans cette dernière, on détermine les paramètres pharmacocinétiques de chaque individu, puis on calcule les moyennes et les variabilités de ces paramètres. Cette approche nécessite de disposer d'un nombre important de prélèvements par patient (10 à 15 prélèvements). La pharmacocinétique de population désigne quant à elle une technique générale d'analyse des données qui permet d'estimer la valeur centrale (moyenne ou médiane) des paramètres pharmacocinétiques et leur variabilité (variance) dans une population donnée. L'intérêt

premier des méthodes de populations est qu'elles permettent d'identifier et de quantifier les sources de variabilité pharmacocinétique inter-patient.

L'estimation Bayésienne présente l'avantage d'utiliser un nombre limité de prélèvements (3 en général) avec une plus grande souplesse dans le respect des horaires de prélèvements qui est plus compatible avec la pratique clinique. De plus elle permet pour chaque patient d'estimer l'ensemble des paramètres pharmacocinétiques et de reconstituer la totalité de la courbe de la concentration en fonction du temps grâce aux informations issues de l'ensemble de la population.

V.2 STP des immunosuppresseurs

La CsA est l'une des premières molécules pour lequel le recours au STP a été requis dans les recommandations réglementaires du résumé des caractéristiques du produit (RCP), en raison notamment de la néphrotoxicité dose- et concentration-dépendante qu'elle induit, de sa très faible marge thérapeutique et de son absorption faible et variable. Le premier indice d'exposition proposé fut la concentration résiduelle (C₀), classiquement effectuée le matin, douze heures après la prise et juste avant la prise matinale mais plusieurs travaux ont rapporté une faible corrélation entre C₀ et le devenir clinique du patient ainsi qu'entre C₀ et l'exposition au médicament mesurée par l'SSC (49). La mesure de C₂ (concentration sanguine deux heures après la prise) semble mieux apprécier l'intensité de l'absorption et être une bonne alternative à l'utilisation de C₀ (50-52). Cependant, l'SSC reste l'index d'exposition au médicament le plus fiable.

Le STP du tacrolimus est également obligatoire et basé sur la mesure de C₀ malgré plusieurs études qui ont montré les limites de cette stratégie en terme d'efficacité du traitement (53,54). Comme pour la ciclosporine, l'estimation de l'SSC semble être l'outil le mieux adapté pour ajuster efficacement la posologie chez tous les patients alors que la stratégie « C₀ » est appropriée au suivi d'un patient stable qui va bien.

A l'instar des inhibiteurs de la calcineurine, les inhibiteurs de la mTOR sont soumis à une grande variabilité interindividuelle. Il est donc recommandé de réaliser un suivi des concentrations thérapeutiques, en particulier avec le sirolimus, afin d'ajuster la posologie en fonction des concentrations sanguines résiduelles, relativement bien corrélées aux valeurs d'SSC.

Lors de l'introduction du MMF sur le marché, l'administration d'une dose quotidienne fixe de MMF pour tous les patients était recommandée et aucun STP particulier n'était préconisé. Cependant, plusieurs arguments remettent aujourd'hui en cause ce schéma d'administration (problèmes de tolérance responsables d'une diminution de doses voire de l'arrêt de traitement, ajustement des doses souvent nécessaire chez les enfants, volonté de diminuer de l'exposition aux anti-calcineurine) et rendent nécessaire la prise en compte de l'exposition individuelle. De plus, l'acide mycophénolique répond à la plupart des critères qui justifient le recours au STP. Une liste de recommandations et de directives médicales définissant les bases fondamentales nécessaires à la pratique du STP du MMF a été formulée pour la première fois en 1998 lors d'une conférence de consensus (55). L'SSC₀₋₁₂ a été définie comme meilleur index d'exposition et indice de choix pour le STP du MMF puisqu'elle présentait une valeur prédictive supérieure à celle de C₀, de C_{max} ou de la dose de MMF, en terme de probabilité de rejet aigu de greffe (55,56).

Même si la mesure de C₀ (ou de C₂ pour la ciclosporine) est encore beaucoup utilisée pour le STP des médicaments immunosuppresseurs, l'SSC reste le meilleur index d'exposition du patient au médicament et son estimation est largement facilitée par le développement des estimateurs Bayesiens. Ainsi le recourt à ces outils d'adaptation de posologie par méthode Bayésienne est de plus en plus fréquent. La mise à disposition des centres de transplantation d'un site Web gratuit, accessible à travers le site du CHU de Limoges et proposant une adaptation des posologies de ciclosporine, de tacrolimus et de MMF, a pour beaucoup contribué à cet effet en facilitant l'accès à ce type d'outil complexe (site ABIS - Adaptation Bayésienne des ImmunoSuppresseurs - sur <https://pharmaco.chu-limoges.fr/abis.htm>).

Il existe peu d'études publiées ayant mis en évidence l'intérêt du STP des immunosuppresseurs par rapport à l'administration de doses fixes. Seulement deux essais randomisés ont été réalisés pour étudier le bénéfice du STP de l'AMP chez des patients transplantés rénaux (FDDC (57) et Apomygre (58) mais leurs résultats sont contradictoires. En effet, seule l'étude Apomygre a mis en évidence une diminution significative des rejets aigus (diagnostiqués par biopsies) chez les patients recevant une dose adaptée de MMF. Il n'existe à ce jour aucune étude similaire sur les inhibiteurs de la calcineurine et de la mTOR.

PARTIE III : ROLE DES IMMUNOSUPPRESSEURS DANS LA NEPHROPATHIE CHRONIQUE D'ALLOGREFFE

Depuis 1959, année de la première greffe rénale notifiée dans la base de données Cristal qui gère toutes les informations relatives à l'activité de transplantation en France, un total de 52 488 greffes rénales a été enregistré en France. En décembre 2007, le nombre estimé de porteurs d'un greffon rénal était de 27 127, soit une prévalence de l'ordre de 429.1 par million d'habitants. La transplantation rénale est de loin, la plus fréquente des greffes d'organes, elle représente en France près de 58% des transplantations effectuées en 2007.

I. DE L'INSUFFISANCE RENALE CHRONIQUE A LA TRANSPLANTATION RENALE

La greffe rénale est réalisée lorsque les patients atteignent un stade d'insuffisance rénale chronique dit terminal, c'est-à-dire qui nécessite la mise en place d'une épuration extra-rénale pour palier le déficit de la fonction rénale. En France, près de 5 000 nouveaux cas d'insuffisance rénale terminale sont recensés chaque année.

L'insuffisance rénale chronique est actuellement un problème majeur de santé publique responsable d'un coût très important, de l'ordre de 1.7 milliard d'euros par an pour 52 000 patients, et dont les mécanismes évolutifs après l'atteinte rénale initiale restent encore largement inconnus. Les lésions rénales initiales peuvent toucher une ou plusieurs structures élémentaires du néphron (glomérule, tubule, interstitium ou vaisseau) (figure 12) mais quelque soit leur origine, leur mode de progression est le plus souvent similaire avec comme facteur pronostic majeur une atteinte tubulo-interstitielle.

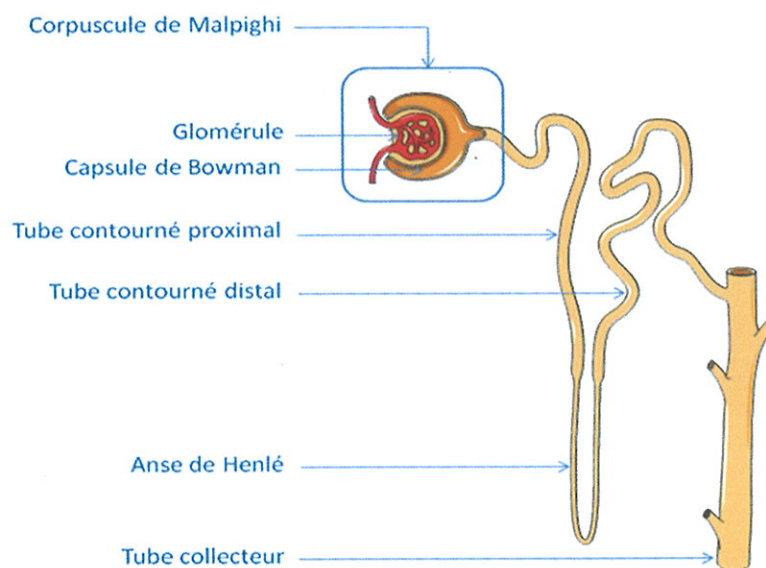


Figure 12 : Schéma d'un néphron.

Quelle que soit la maladie qui la cause, l'insuffisance rénale correspond à une perte fonctionnelle progressive des néphrons. Que les lésions soient glomérulaires et/ou tubulo-interstitielles, l'atteinte d'une partie du néphron le rend non fonctionnel. Les néphrons lésés perdent alors leur capacité de filtration glomérulaire et d'adaptation des fonctions tubulaires indispensables au maintien de l'homéostasie. En contrepartie, les néphrons indemnes augmentent leur capacité fonctionnelle afin de compenser cette perte néphronique. C'est grâce à ce mécanisme de compensation que les malades présentant une réduction néphronique jusqu'à 25% de la valeur normale sont généralement indemnes de tout symptôme urémique. Jusqu'à 50% de perte, la fonction rénale peut être maintenue, sans que le parenchyme rénal soit altéré, grâce à l'hyperplasie et l'hypertrophie compensatrice des néphrons restants. Au-delà de 70% de néphrons lésés, ces phénomènes compensateurs sont associés à des modifications du remodelage de la matrice extracellulaire (MEC) qui conduisent progressivement à des lésions typiques de dilatations kystiques, de fibrose interstitielle et à la destruction inexorable du parenchyme rénal. À ce stade terminal, le rein n'est plus capable de maintenir l'homéostasie et il est nécessaire d'entreprendre un traitement substitutif par dialyse chronique et/ou transplantation rénale lorsque celle-ci est possible.

Dans le cas de la transplantation, le rein greffé prend le relais des reins du patient receveur pour rétablir une fonction rénale normale. Cette situation est alors comparable à une situation

de réduction néphronique de 50%. Cependant, malgré l'adaptation à cette situation de rein unique, le greffon est très souvent l'objet d'une détérioration par une forme particulière de maladie rénale appelée néphropathie chronique d'allogreffe (NCA).

Alors que l'incidence des rejets aigus a fortement diminué (grâce à une meilleure compréhension des mécanismes immunologiques et à l'amélioration des traitements immunosuppresseurs, des techniques de typage des tissus et des procédures de préservation des greffons), la NCA, et, par extension, la survie à long terme du greffon rénal, sont devenus les problèmes majeurs de la transplantation rénale. En effet, si depuis une vingtaine d'années la survie des patients greffés est passée de 50% à 95% au cours de la première année (59), l'analyse des transplantations effectuées aux Etats-Unis de 1993 à 2002 montre que seulement 58% des patients et 36% des greffons survivent 10 ans après une greffe rénale et la survie des greffons transplantés entre 1988 et 1995 n'a augmenté que de deux ans, pour atteindre 8 ans en moyenne. En France, les taux de survie du greffon pour les 17 802 patients ayant bénéficié d'une greffe rénale entre 1990 et 1999 étaient respectivement de 88% à 1 an, 76.7% à 5 ans et 60.7% à 10 ans (1). La NCA est aujourd'hui la cause majeure de la perte du greffon et donc d'échec de la greffe dès la deuxième année post-greffe.

II. LA NEPHROPATHIE CHRONIQUE D'ALLOGREFFE

II.1 Définition

La NCA peut être définie comme une dysfonction du greffon rénal qui apparaît au moins trois mois après la transplantation, indépendamment de tout phénomène de rejet aigu, de surdosage médicamenteux ou d'autre pathologie. Elle se caractérise par une détérioration progressive de la fonction rénale avec une augmentation lente de la protéinurie et de la créatinine plasmatique et une aggravation de l'hypertension artérielle typiquement associée à l'insuffisance rénale. Ces manifestations cliniques sont associées à des atteintes pathologiques des différentes structures du rein : vaisseaux sanguins, glomérules, interstitium et tubules. Devant le peu de spécificité des signes cliniques observés, le diagnostic de la NCA repose essentiellement sur l'évaluation histologique de ces tissus atteints (60).

II.2 Histologie

Les lésions histologiques caractéristiques de la NCA, ont été décrites pour la première fois en 1953 par Hume et al. au cours d'une étude portant sur neuf transplants rénaux (61). Comme cités précédemment, les principaux tissus atteints sont les tubules, les interstitium, les glomérules et les vaisseaux.

Les deux lésions les plus caractéristiques de la NCA sont la fibrose interstitielle et l'atrophie tubulaire (FI-AT). Elles sont associées à des phénomènes d'occlusions vasculaires (hyperplasie intimale et athérosclérose à long terme) et de sclérose des glomérules (expansion de cellules mésangiales et matricielles, épaissement des membranes basales) (62).

La sévérité de la NCA est déterminée histologiquement grâce à la classification de Banff avec comme critère prédominant le degré de la FI-AT :

- * Grade I : FI-AT bénigne : < 25% de l'aire corticale
- * Grade II : FI-AT modérée : 26 à 50% de l'aire corticale
- * Grade III : FI-AT sévère : > 50% de l'aire corticale

La progression de la NCA peut être divisée en deux phases distinctes au cours desquelles les structures rénales atteintes varient (62).

La première phase correspond à la première année post-greffe. Elle est caractérisée par l'apparition et la progression constante au cours de l'année d'atteintes tubulo-interstitielles, avec une très forte élévation du score de Banff de la FI-AT. Au cours du premier mois après la greffe, ces atteintes sont accompagnées d'importants phénomènes inflammatoires qui diminuent ensuite progressivement : 60.8% des patients présentent une infiltration lymphocytaire, une tubulite significative et des épisodes de rejets infra-cliniques 1 mois après la greffe ; 45.7% après 3 mois ; 25.8% à 1 an et 17.7% en moyenne au-delà. Au cours de cette première année, les atteintes glomérulaires et vasculaires sont minimales. 1 an après la greffe, 94.2% des patients présentent une NCA de grade I, avec un délai d'apparition moyen de trois mois après l'opération.

Au-delà de la première année, alors que la FI-AT continue de progresser, le greffon développe des signes d'atteintes glomérulaires (glomérulosclérose ischémique progressive) et vasculaires (hyalinose artériolaire, rétrécissement des vaisseaux) qui aboutissent au déclin progressif et irrémédiable de la fonction rénale. Après 10 ans, 37.3% des glomérules sont sclérosés et 58.4% des patients présentent une NCA sévère. Au cours de cette deuxième phase de progression, les phénomènes inflammatoires sont moins importants mais contribuent

toujours au maintien et à la progression des lésions. En revanche, le rôle de la néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine utilisés à long terme est de plus en plus important et devient après 10 ans, la principale cause des lésions histologiques tardives et du déclin de la fonction rénale. 10 ans après la greffe, 58.4% des patients présentent une NCA sévère (63).

II.3 Physiopathologie

Les principales causes de la détérioration du tissu rénal sont la fibrose interstitielle et l'atrophie tubulaire. Ces deux phénomènes résultent de modifications phénotypiques des différentes structures rénales qui provoquent des lésions irréversibles et conduisent à une diminution du nombre de néphrons fonctionnels. Les néphrons détruits ne pouvant être remplacés, la perte néphronique aboutit au dysfonctionnement général du rein et, à long terme à la perte du greffon.

Ces modifications phénotypiques sont pour beaucoup liées à la présence de cellules inflammatoires infiltrées dans les tissus rénaux et à leur interaction avec les cellules résidentes. Elles touchent principalement les cellules endothéliales, les cellules mésangiales et les cellules tubulaires épithéliales.

II.3.1 Inflammation

Les phénomènes inflammatoires sont initiés par des lésions de l'endothélium vasculaire au cours de la phase d'ischémie-reperfusion. Les cellules lésées produisent de façon accrue des radicaux oxygénés libres qui conduisent à la sécrétion de cytokines inflammatoires et à la migration des leucocytes (neutrophiles, monocytes, macrophages et LT) vers le site de lésion. Au cours de cette phase de migration, les leucocytes entrent en contact avec les chimiokines retenues à la surface des cellules endothéliales activées. L'interaction entraîne alors l'activation des intégrines leucocytaires et l'adhésion stable des leucocytes à la surface endothéliale par l'intermédiaire de molécules d'adhésion comme ICAM-1, VCAM-1 et E-sélectine. Les leucocytes traversent alors l'endothélium et infiltrent l'interstitium rénal. Une fois infiltrés, les macrophages sécrètent un certain nombre de cytokines qui vont favoriser la fibrose rénale (TNF- α ; IL-1 β ; PDGF ; bFGF ; TGF- β). Les lymphocytes Th en sécrètent également: les LTh1 sécrètent principalement IL-2 et IFN- γ et les LTh2 principalement IL-4,-5,-6,-10 et -13.

Plusieurs modèles expérimentaux ainsi que l'observation de nombreuses biopsies ont permis de mettre en évidence cette importante infiltration leucocytaire et le nombre conséquent de

macrophages et de LT retrouvés dans les tissus atteints de NCA et présentant une importante fibrose (64).

II.3.2 Modifications cellulaires

La libération des cytokines profibrotiques par les macrophages ainsi que l'activation de l'endothélium induisent un certain nombre de modifications phénotypiques des cellules glomérulaires et tubulaires qui acquièrent ainsi un phénotype mésenchymateux, principal responsable de la fibrose interstitielle.

II.3.2.1 Les cellules endothéliales

Les cellules endothéliales activées acquièrent transitoirement un phénotype pro-inflammatoire : elles sécrètent des cytokines (IL-1, IL-6, IFN- γ , TNF- α), des chimiokines (IL-8, MCP1) et des facteurs de croissance (PDGF, IGF-1, TGF- β) et expriment à leur surface des molécules d'adhésion comme la E-sélectine, ICMA-1, VCAM-1. Elles perdent également leurs propriétés anticoagulantes (augmentation des facteurs de coagulation, augmentation de l'inhibiteur du plasminogène PAI-1 et diminution de la thrombomoduline) et antiprolifératives (64).

II.3.2.2 Les cellules mésangiales

Les cellules mésangiales se différencient et acquièrent un phénotype mésenchymateux appelé mésangioblaste. Ces mésangioblastes sont alors capables de proliférer et de se contracter et expriment en grande quantité l'alpha-SMA (α -smooth muscle actin). Ils ne sécrètent plus le collagène de type IV comme les cellules mésangiales mais les collagènes de type I et III, qui ne peuvent être sécrétés par les cellules matures. Les glomérules étant dépourvus de métalloprotéases responsables de la dégradation de ce type collagènes, les dépôts sont irréversibles et induisent l'apparition de la fibrose. Ces modifications phénotypiques peuvent être induites *in vitro* par l'incubation des cellules en présence de TGF β -1 (65).

II.3.2.3 Les cellules épithéliales

Les modifications phénotypiques des cellules tubulaires épithéliales sont regroupées dans le terme de transition épithélio-mésenchymateuse (TEM). La TEM peut être considérée comme une « embryogénèse à l'envers » puisqu'elle reproduit à l'inverse le processus de formation du néphron qui est une structure épithéliale dérivant d'un bourgeon mésenchymateux (66).

Les changements phénotypiques se manifestent par une perte du phénotype épithélial et par l'acquisition d'un phénotype mésenchymateux (figure 13). Les cellules épithéliales se transforment alors en myofibroblastes, cellules intermédiaires entre les fibroblastes et les cellules musculaires lisses. Elles s'hypertrophient, perdent leur polarisation et n'expriment plus de marqueurs épithéliaux comme la E-cadhérine (protéine de jonction) et la cytokératine. En revanche, elles expriment des marqueurs mésenchymateux comme l' α -SMA et la vimentine, elles sont capables de sécréter la fibronectine et les collagènes de type I et III et, comme les cellules musculaires lisses, elles sont capables de proliférer et de se contracter. Les cellules se transforment ainsi en cellules fusiformes, elles traversent la membrane basale tubulaire, gagnent l'interstitium. Elles y sécrètent du collagène en grande quantité, qui, associée à une diminution de l'activité des systèmes de dégradation, va s'accumuler et provoquer la fibrose interstitielle (65). La présence de ces myofibroblastes est également entretenue par l'activation des fibroblastes (64).

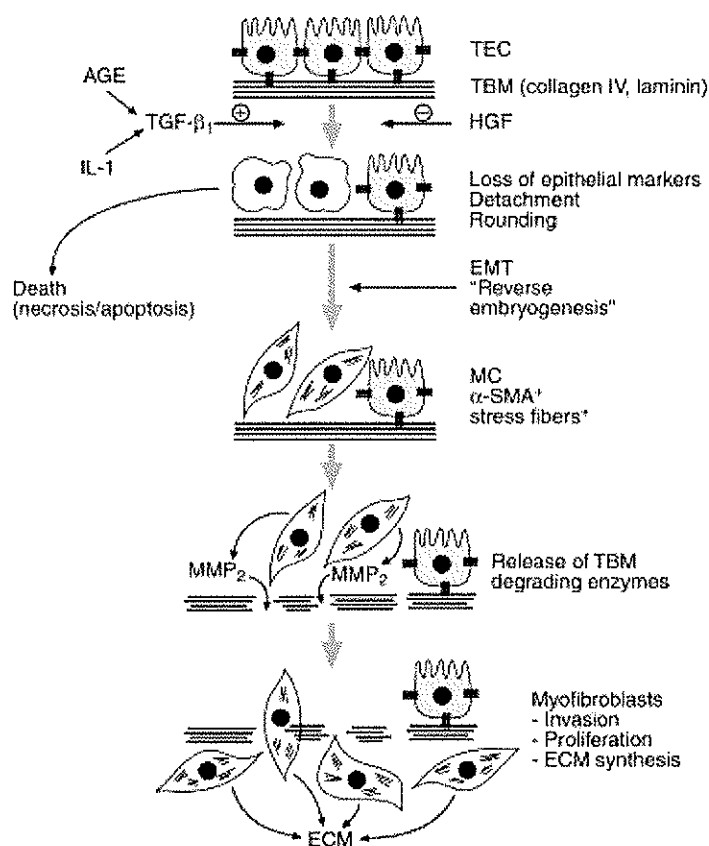


Figure 13 : Mécanisme des le TEM (65).

(TEC : cellules épithéliales tubulaires ; TBM : membrane basale ; EMT : transition épithélio-mésenchymateuse ; MC : cellules mésenchymateuses ; ECM : matrice extracellulaire)

La TEM peut être induit par un grand nombre de facteurs de croissance comme TGF β -1, EGF ou encore IL-1 (65) et il a été montré dans plusieurs modèles animaux que ces modifications phénotypiques contribuaient fortement à la fibrogénèse rénale (67).

II.3.3 Accumulation de la matrice extracellulaire

La MEC est un système dynamique qui joue un rôle dans la structure, l'adhérence, le mouvement et la régulation de la cellule. Elle est composée d'une membrane basale qui sert de soutien aux cellules polarisées et d'un tissu interstitiel. Trois types de molécules la constituent :

- des fibres comme le collagène et l'élastine, essentiellement responsables de la structure de la matrice ;
- des glycoprotéines comme la fibronectine et la laminine, en quantité moins importante que les fibres et principalement impliquées dans l'adhérence cellulaire ;
- des polysaccharides très hydratés qui constituent un gel de remplissage de la matrice.

Il s'agit de glycoaminoglycanes qui sont reliés de façon covalente à une protéine pour former des protéoglycanes.

Il existe peu de travaux concernant les éventuelles différences de composition de la MEC entre un rein sain et un rein atteint de NCA. Seulement deux études menées sur des biopsies de transplantés rénaux ont montré la présence anormale de collagène de type I, III et IV dans l'interstitium ainsi que de collagène de type IV et de laminine dans les membranes tubulaires (68,69).

Le remodelage de la MEC dépend d'un équilibre entre les facteurs favorisant la synthèse des protéines et ceux responsables de leur dégradation (figure 14). Toute modification de cet équilibre peut entraîner d'importantes lésions cellulaires comme la fibrose, causée principalement par une augmentation de la synthèse des fibres de collagène et par une diminution de l'activité des systèmes de dégradation de ces protéines.

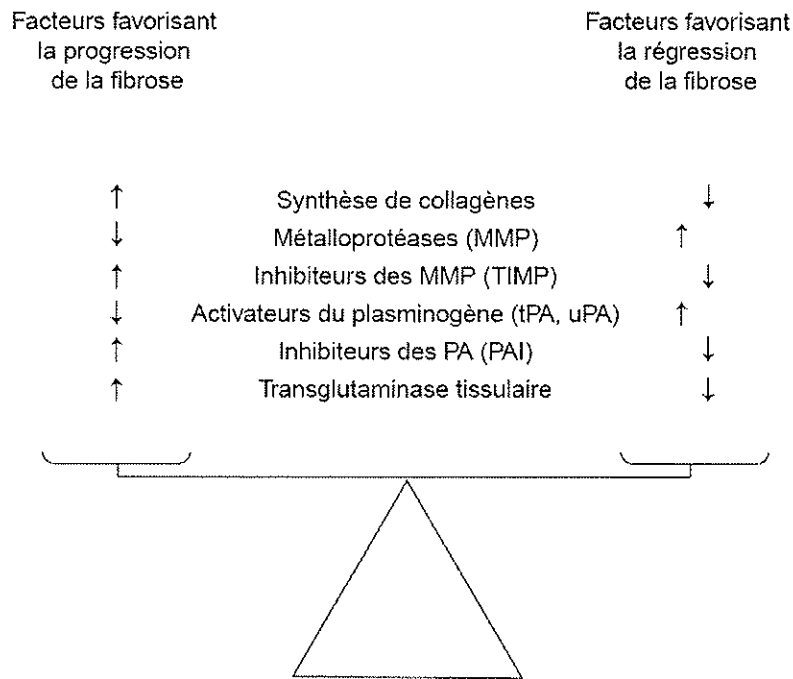


Figure 14 : Facteurs influençant la fibrose rénale (70).

Les principaux systèmes de dégradation des collagènes sont les métalloprotéases (MMP) et les inhibiteurs de ces MMP, les TIMPs. Plusieurs études menées chez des transplantés rénaux présentant une NCA ont montré une augmentation du taux circulant de MMP-2 et de MMP-3 ainsi qu'une augmentation de l'ARNm de MMP-2 intra-glomérulaire (71,72). Inkinen et al. ont également montré l'augmentation de l'expression et de l'activité de MMP-2 dans un modèle murin de NCA, associée à une augmentation de l'expression et de l'activité de MMP-9 et à une diminution de l'expression TIMP-3 (73). Enfin, des études récentes ont mis en évidence une augmentation de l'expression de protéines ADAMs (-17 et -19) corrélée à la NCA (74,75). Il s'agit de glycoprotéines de surface, constituées d'un domaine disintégrine dédié à l'adhésion cellulaire et d'un domaine métalloprotéase.

Les activateurs du plasminogène (uPA, tPA) et leurs inhibiteurs (PAI) jouent également un rôle dans le maintien de l'homéostasie de la MEC et donc dans la progression de la fibrose. Wang et al. ont montré une augmentation de l'activité de PAI-1 dans plusieurs modèles animaux de NCA (76). De plus, l'étude de biopsies humaines présentant une NCA a également montré une forte augmentation de l'expression de PAI-1, directement corrélée au degrés de fibrose interstitielle (77,78).

II.4 Facteurs de risque de la NCA

La NCA est une maladie multifactorielle. Il est à présent admis que l'agression du parenchyme rénal résulte d'une combinaison de phénomènes immuns (épisodes de rejet) et de phénomènes non immuns liés au donneur, au receveur, à l'intervention elle-même et à l'exposition aux infections et aux immunosuppresseurs (inhibiteurs de la calcineurine).

Il existe cependant d'autres facteurs d'aggravation, communs à toutes les maladies rénales (phénomènes ischémiques, hypertension artérielle et trouble des métabolismes glucidique et lipidique), qui semblent également participer à la progression de l'atteinte du greffon bien que leur rôle soit moins étudié (77,79).

Les principaux facteurs influençant le développement et la sévérité de la NCA sont l'âge du donneur, les rejets aigus vasculaires et les rejets infra-cliniques au cours de la première année puis la néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine au-delà (63).

II.4.1 Facteurs immunologiques

Les facteurs immunologiques sont principalement à l'origine des atteintes tubulo-interstitielles qui surviennent au cours de la première année. Il s'agit essentiellement d'épisodes de rejets infra-cliniques et de rejets aigus. 1 an après la greffe, 25.6% des biopsies de patients ayant présenté des épisodes de rejets aigus et/ou infra-cliniques montrent une NCA modérée contre seulement 7.5% chez ceux n'en ayant pas subi (62).

Grâce à l'optimisation de ces traitements, les rejets chroniques sont relativement rares (moins de 6%), il est donc difficile d'identifier leur rôle dans la survenue de la NCA. En revanche la présence de ces rejets augmente la sévérité de la NCA (62).

II.4.1.1 Rejets aigus

Les épisodes de rejets aigus favorisent l'apparition de la NCA. Plus le rejet est tardif (le plus souvent dû à une mauvaise compliance des patients à leur traitement immunosuppresseur), plus le risque de survenue de la NCA est important. De plus, plus les épisodes sont fréquents et sévères, plus les lésions observées sont importantes. Enfin, le rejet aigu vasculaire provoque des lésions rénales plus étendues et plus sévères que celles observées lors d'un rejet aigu cellulaire qui sont relativement minimales, sauf en cas d'épisode très sévère (62).

II.4.1.2 Rejets infra-cliniques

Le développement et la sévérité de la NCA sont également liés à la survenue de rejets infra-cliniques. Plus ces épisodes sont fréquents et persistants, plus les lésions observées sont importantes et plus le grade de la NCA est élevé. Ces rejets sont mis en évidence lors des protocoles pratiquant des biopsies rénales après la greffe et sont moins fréquents avec le tacrolimus qu'avec la ciclosporine. Ils sont la preuve histologique de la présence d'un rejet en l'absence de signe fonctionnel d'atteinte du greffon (62).

L'importance des lésions induites par ces facteurs immuns dépend donc du type de rejet, de sa persistance, de son délai d'apparition et de sa sévérité. Cependant, en règle générale, la survie du greffon au cours de la première année est excellente, grâce aux traitements immunosuppresseurs qui limitent au maximum les épisodes de rejet.

II.4.2 Facteurs non immunologiques

La néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine est un facteur majeur dans la progression de la NCA à long terme. Cette néphrotoxicité étant détaillée dans la troisième partie, nous ne développerons ici que les facteurs liés au donneur, au receveur, à l'intervention elle-même et à l'exposition aux infections.

II.4.2.1 Le donneur

Le risque de NCA augmente avec l'âge du donneur. L'explication initialement avancée était que la réduction de la masse rénale avec l'âge conduisait à une hyperperfusion rénale et à la sclérose des glomérules. A présent il semble plus probable que l'âge du donneur ait une influence sur la NCA en raison de la sénescence cellulaire. En effet, celle-ci conduit à une dysfonction endothéliale et épithéliale et à une atrophie qui entretiennent les phénomènes de fibrose (64).

La mort cérébrale et l'état d'activation du système immunitaire du donneur sont également impliqués dans le développement de la NCA. Takada et al. ont montré que l'état de mort cérébrale activait certaines cellules immunitaires augmentant ainsi l'immunogénicité du transplant (80). Koo et al. ont également mis en évidence une augmentation de l'expression de la E-sélectine endothéliale (molécule d'adhérence), des HLA-DR (molécules de classe II de

CMH) au niveau des tubules proximaux et d'ICAM-1 et VCAM-1 (molécules d'adhésion intercellulaire et vasculaire) dans les biopsies rénales provenant de donneurs morts par rapport à celles provenant de donneurs vivants (81).

II.4.2.2 Le receveur

Plusieurs travaux émettent l'hypothèse que la présence avant la greffe d'hypertension, d'hypercholestérolémie, d'hypertriglycéridémie et d'hyperhomocystéinémie chez le receveur favorisent l'apparition de la NCA (64). Les données épidémiologiques actuelles ne permettent cependant pas de mettre clairement en évidence ce lien.

II.4.2.3 Reprise de fonction du greffon et ischémie-reperfusion

Le temps de reprise de fonction du greffon ainsi que celui de l'ischémie froide au cours de l'intervention semblent avoir une influence sur la prévalence et le délai d'apparition de la NCA mais il est encore difficile de mettre en évidence cette association au niveau clinique et épidémiologique. En effet l'existence de nombreuses études contradictoires ne permet pas encore de définir si l'apparition précoce de la NCA à la suite d'une reprise tardive de fonction du greffon est directement liée à taux plus élevé de rejet associé à cette reprise tardive de fonction ou si d'autres facteurs interviennent (64).

L'effet du temps d'ischémie froide sur la survie du greffon est également encore débattu (82). Cependant, les lésions consécutives à la phase d'ischémie-reperfusion sont le plus souvent la cause sous-jacente du retard de reprise de fonction de la greffe. Elles causent des lésions endothéliales qui favorisent l'activation leucocytaire et donc les phénomènes d'inflammation et de fibrose. Ces lésions retardent alors la reprise de fonction du greffon, augmentant ainsi le risque de rejet aigu et donc potentiellement le risque d'apparition et la sévérité de la NCA.

II.4.2.4 Infection par le CMV

L'infection par le cytomégalovirus humain (HCMV) est un facteur de risque bien connu de la NCA. Plusieurs études ont montré que le HCMV activait les LT CD8+, augmentait l'expression de la molécule d'adhésion VCAM-1, induisait une dysfonction endothéliale généralisée et favorisait la prolifération des cellules musculaires lisses ; l'ensemble conduisant alors à une augmentation du risque de développer une NCA (64).

La NCA est donc une pathologie complexe, initiée et influencée par de nombreux facteurs. Son évolution est étroitement liée aux traitements immunosuppresseurs pris à long terme et en particuliers aux inhibiteurs de la calcineurine, très néphrotoxiques et qui sont les principaux responsables de la perte du greffon à long terme.

III. ROLE PROPRE DES IMMUNOSUPPESSEURS DANS LA NCA

De nombreux protocoles pratiqués sur des biopsies rénales de patients transplantés ont mis en évidence la place importante des traitements immunosuppresseurs dans le développement et la régulation de la NCA. Paradoxalement, malgré la diminution des rejets aigus et la modulation à court terme des processus de fibrose secondaires aux atteintes rénales, certains traitements induisent une néphrotoxicité irréversible qui progresse irrémédiablement et devient quasiment universelle 10 ans après la greffe (62). Parmi les principales molécules utilisées, seules les inhibiteurs de la calcineurine présentent un degré aussi élevé de néphrotoxicité.

III.1 Le mycophénolate mofétyl

Le MMF ne présente pas de toxicité rénale ; il est même associé à une augmentation de la survie du greffon (83). Au cours de cette étude, les effets bénéfiques du MMF sur la survie du greffon étaient indépendants de l'incidence des rejets aigus, ce qui signifie qu'il protège le greffon rénal à travers d'autres mécanismes. Plusieurs modèles expérimentaux d'atteintes rénales ont montré qu'à travers ses propriétés antiprolifératives, le MMF était capable de modifier la réponse rénale aux agressions et pourrait ainsi retarder la progression des lésions vers l'atteinte rénale terminale (84-86). Cependant, il manque encore des données histologiques permettant confirmer cette hypothèse et l'éventuel rôle protecteur du MMF contre la NCA.

III.2 Les inhibiteurs de la mTOR

Les inhibiteurs de la mTOR (sirolimus et everolimus) ne montrent pas de néphrotoxicité majeure malgré une protéinurie systématiquement associée au traitement. Ils possèdent même des effets bénéfiques anti-fibrotique et antiprolifératif qui expliquent l'intérêt de l'utilisation du sirolimus dans le traitement de la polykystose rénale (87).

L'association sirolimus/MMF préserve mieux la fonction et la structure rénale que l'association ciclosporine/MMF (88). En effet, 2 ans après la greffe, la proportion de biopsies normales est significativement plus importante chez les patients recevant le sirolimus que chez ceux recevant la ciclosporine (66.6% vs. 20.8%). Enfin, le sirolimus ne doit pas être associé à la ciclosporine car il potentialise ses effets néphrotoxiques (87).

III.3 Les inhibiteurs de la calcineurine

L'introduction des inhibiteurs de la calcineurine dans la thérapeutique a fortement amélioré les résultats à court terme de la transplantation rénale. En revanche, la survie du greffon à long terme n'a pas été améliorée d'autant et les inhibiteurs de la calcineurine semblent même aggraver la NCA en raison de leur importante néphrotoxicité.

Au-delà de la première année post-greffe, cette néphrotoxicité est le principal facteur favorisant la NCA. Sa prévalence augmente considérablement au cours des années et elle devient quasiment universelle au bout de 10 ans (62) (Figure 15).

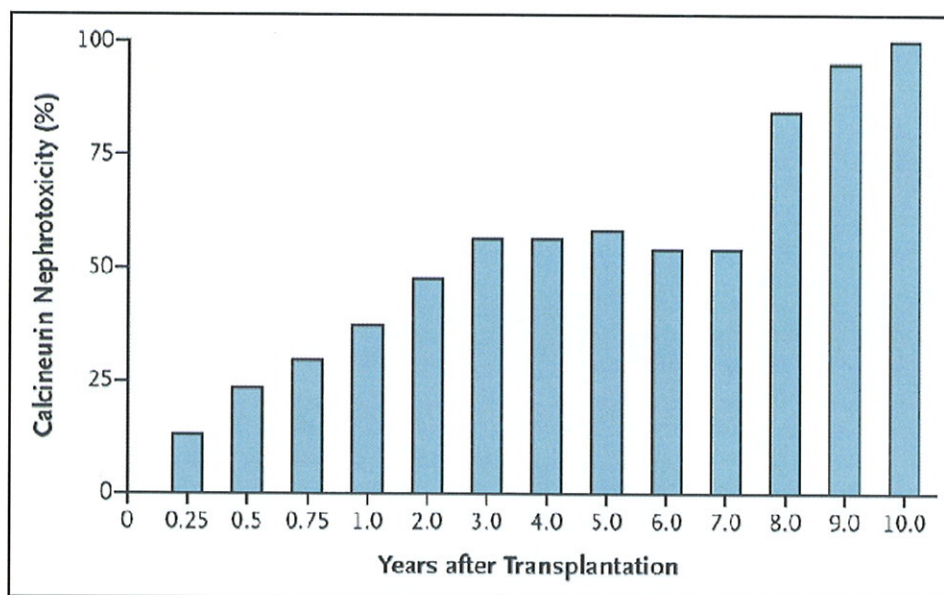


Figure 15 : Prévalence de la néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine (62).

La ciclosporine et le tacrolimus exercent les mêmes effets fibrogéniques et induisent le même type de lésions histologiques liées à leur néphrotoxicité (63). Celle-ci semble être cependant moins importante avec le tacrolimus qu'avec la ciclosporine. En effet, avec le tacrolimus, les épisodes de rejet aigu sont moins fréquents et moins sévères (89) et la survie du greffon à long

terme est plus importante (90). Certaines études ont également mis en évidence que l'incidence des rejets infra-cliniques était moins importante avec l'association tacrolimus/MMF qu'avec l'association ciclosporine MMF (91-93).

Dans le cadre de ce travail, nous prendrons la ciclosporine comme exemple pour mettre en évidence cette néphrotoxicité.

III.3.1 Néphrotoxicité de la ciclosporine

La ciclosporine cause deux formes de néphrotoxicité, l'une fonctionnelle ou aiguë et l'autre structurale ou chronique.

III.3.1.1 Néphrotoxicité fonctionnelle

La néphrotoxicité fonctionnelle est une toxicité aiguë, réversible et dose dépendante, caractérisée par une augmentation asymptomatique de la créatinine sérique. Elle apparaît même aux doses thérapeutiques. Histologiquement le rein ne montre aucune atteinte spécifique. Les troubles fonctionnels sont liés à un déséquilibre local entre les facteurs vasodilatateurs et vasoconstricteurs qui conduit à une vasoconstriction intra-rénale intense. Cette vasoconstriction induit une diminution du débit sanguin rénal, une augmentation des résistances vasculaires et une diminution variable du débit de filtration glomérulaire. La vasoconstriction touche préférentiellement les artérioles afférentes. Les modifications histologiques observées dans les modèles expérimentaux et chez les patients sont minimes et non spécifiques, voire absentes.

III.3.1.2 Néphrotoxicité structurale

La toxicité structurale est celle qui pose problème en transplantation rénale. Elle est liée à l'exposition à long terme du rein à la ciclosporine. En plus de la vasoconstriction, elle est caractérisée par l'apparition d'atteintes vasculaires et l'apparition de lésions glomérulaires et tubulo-interstitielles irréversibles qui conduisent à la perte du greffon. Ces atteintes sont très proches de celles observées au cours de la NCA ce qui rend difficile la distinction de ces deux processus.

Le premier signe histologique de cette toxicité est la vacuolisation des cellules musculaires lisses et des cellules endothéliales des artérioles afférentes. A un stade plus avancé, les cellules se nécrosent et sont remplacées par des dépôts de matériel protéique, qui conduisent à l'épaississement des parois vasculaires et au développement d'une hyalinose artériolaire. Au

stade terminal, ces dépôts protéiques provoquent une sténose des artérioles et la formation de thrombus fibrineux qui induisent une hypoxie tissulaire aboutissant à des atteintes glomérulaires et tubulo-interstitielles irréversibles (glomérulosclérose, atrophie tubulaire, fibrose interstitielle).

III.3.2 Physiopathologie de la toxicité à long terme

Les mécanismes exacts de la toxicité à long terme de la ciclosporine ne sont pas encore complètement élucidés. Un grand nombre de facteurs, tous modifiés par l'administration de ciclosporine, semblent être impliqués dans la pathogénèse de cette néphrotoxicité. De nombreuses études montrent que la vasoconstriction résulte d'une part de l'augmentation de facteurs vasoconstricteurs (endothéline, thromboxane et angiotensine II) et d'autre part de la diminution de facteurs vasodilatateurs (prostacycline, monoxyde d'azote).

En ce qui concerne le développement des atteintes structurales, un certain nombre de facteurs semblent également être impliqués : l'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) qui favorise les processus de la fibrose et la libération d'aldostérone ; la stimulation de facteurs de croissance comme TGF- β qui intervient dans la régulation de la MEC et les espèces réactives de l'oxygène (ROS) induites par l'hypoxie rénale due à la vasoconstriction (94) (figure 16). Les principaux effets cellulaires de la néphrotoxicité de la ciclosporine sont une augmentation de la mort cellulaire, une modification de l'organisation de la MEC et du cytosquelette.

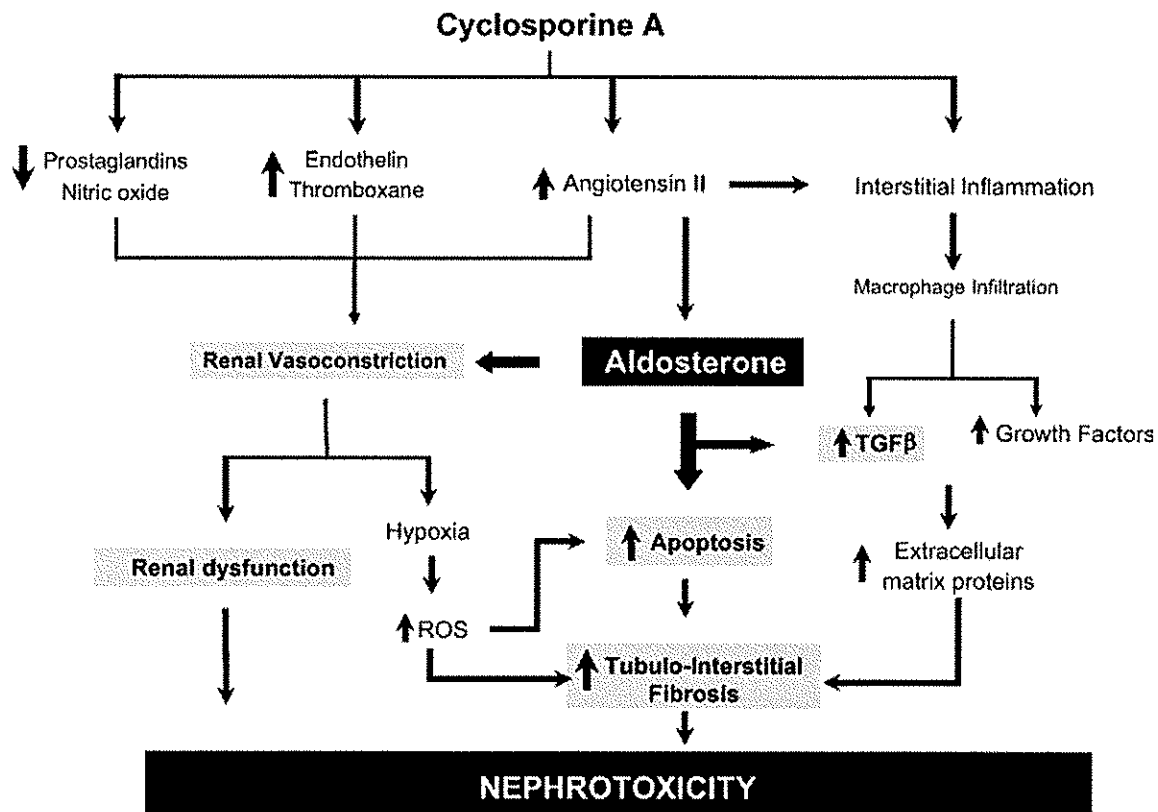


Figure 16 : Physiopathologie de la néphrotoxicité de la cyclosporine (94).

III.3.2.1 Stimulation du système Rénine-Angiotensine-Aldostérone

L'implication potentielle du SRAA a été mise en évidence lorsque les modèles expérimentaux ont été développés dans le but d'étudier la néphrotoxicité chronique de la cyclosporine. En effet, pour que ces modèles développent une forme de toxicité chronique, ils doivent, en plus de la forte dose de cyclosporine qu'ils reçoivent (15 à 50 mg/kg/jour pendant 7 à 28 jours), être placés sous régime hyposodé. Cette condition est indispensable pour observer des lésions comparables à celles présentes dans les biopsies de patients recevant la cyclosporine à long terme. Elle suggère que, pour des raisons qui sont encore mal connues, l'activation du SRAA est directement liée aux atteintes structurales rénales induites par la cyclosporine (94). Il a depuis été montré que la cyclosporine stimulait l'expression de la rénine et la synthèse de l'angiotensine II (Ang II) au niveau systémique et rénal (95).

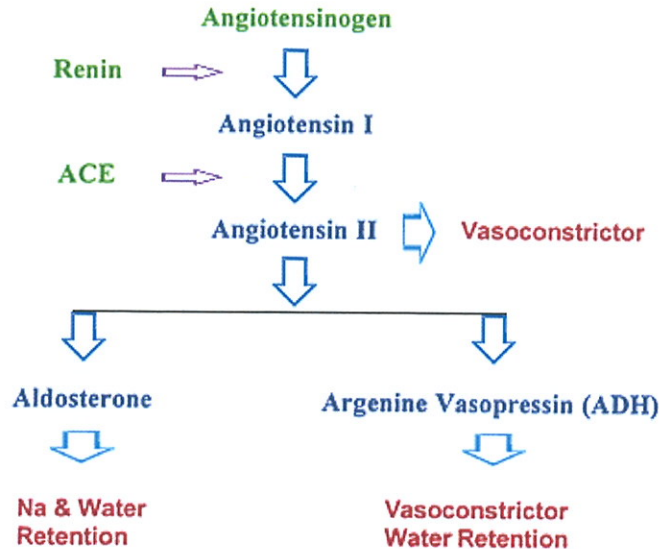


Figure 17 : Schéma du système rénine-angiotensine-aldostérone.

L'Ang II est un facteur de croissance rénale et un puissant peptide vasoconstricteur (figure 17). Elle active les cellules mésangiales, tubulaires et les fibroblastes interstitiels et stimule la synthèse des protéines de la MEC, favorisant ainsi les processus de fibrose (96). Son rôle direct dans la néphrotoxicité de la ciclosporine a été proposé lorsque l'administration d'énalapril (inhibiteur de l'enzyme de conversion) et de valsartan (antagoniste du récepteur de l'Ang II) prévenait la progression des atteintes rénales fonctionnelles et morphologiques induites par la ciclosporine (97). De plus, l'infusion d'Ang II induit chez le rat des modifications histologiques rénales, similaires à celles associées à la néphrotoxicité de la ciclosporine (98).

Depuis quelques années, le rôle potentiel de l'aldostérone et des récepteurs des minéralocorticoïdes (MR) dans les pathologies rénales a également été beaucoup étudié. De nombreuses études ont montré que l'inhibition des MR limitait significativement l'apparition et la progression des atteintes glomérulaires et tubulo-interstitielles dans plusieurs modèles murins de maladies rénales et réduisait même la glomérulosclérose (94). Au vu de ces résultats, Fera et al. ont étudié les effets de l'administration de spironolactone (antagoniste des MR) à des rats recevant de la ciclosporine et montrant des signes de néphrotoxicité chronique (99). Ils ont montré que l'inhibition de MR, et donc des effets de l'aldostérone, réduisait d'une part significativement la FI-AT et d'autre part prévenait entièrement la diminution de la clairance de la créatinine, suggérant ainsi le rôle médiateur de l'aldostérone à

la fois dans les atteintes fonctionnelles et dans les atteintes structurales. Il a par la suite été démontré que ces effets étaient associés à la prévention de la diminution du taux de filtration glomérulaire et au rétablissement d'un débit sanguin rénal normal (100). Deux principaux mécanismes sont avancés pour expliquer les effets de l'aldostérone : par la voie classique au niveau transcriptionnel et par la libération, après fixation de l'hormone sur son récepteur, d'un complexe de Hsps (Heat shock proteins) capable de modifier l'activité de certaines protéines dont la calcineurine.

III.3.2.2 Stimulation des facteurs de croissance

De nombreuses études expérimentales et cliniques ont montré l'implication du facteur de croissance transformant TGF-béta (TGF- β) dans les effets néphrotoxiques de la ciclosporine. Son expression est augmentée à la fois *in vivo* et *in vitro* par la ciclosporine et il est largement suggéré que l'efficacité et les effets indésirables celle-ci passent en partie par le TGF- β (101,102). Au niveau rénal, le TGF- β peut être sécrété par les macrophages interstitiels, les fibroblastes ou encore les cellules tubulaires épithéliales. Il s'agit d'une cytokine qui joue un rôle majeur dans l'initiation de la fibrose rénale en stimulant directement la production des protéines de la MEC et en diminuant la production des collagénases (103). Cependant, aucune modification de la fibrose tubulo-interstitielle n'a été observée après l'administration d'Ac anti-TGF- β à des modèles expérimentaux présentant des lésions avancées. En revanche la neutralisation de TGF- β induit une réduction de la clairance de la créatinine et de la hyalinose artériolaire dans ces mêmes modèles (103). Chez les patients transplantés atteints de NCA, des taux élevés de TGF- β sont presque systématiquement retrouvés dans les biopsies rénales (104,105).

Le VEGF est un autre facteur de croissance dont la voie de synthèse est modulée par la calcineurine et dont l'expression est augmentée par la ciclosporine. Il semble également être impliqué dans la néphrotoxicité de la ciclosporine en intervenant dans le développement des lésions endothéliales et la régénération ces cellules glomérulaires. De plus, son expression est augmentée par le blocage du monoxyde d'azote (NO) et par la stimulation de l'Ang II, tous deux étant des effets secondaires de l'administration de la ciclosporine (106).

L'EGF est un facteur de croissance épidermique, impliqué dans la régénération des cellules tubulaires rénales. Son rôle dans la NCA est encore controversé mais plusieurs études ont mis en évidence son implication dans la progression de lésions au cours de maladies rénales.

Nakopoulou et al. ont montré que l'EGF favorisait l'expansion et l'accumulation de la MEC au cours d'un certain nombre de maladies rénales (107). Terzi et al. ont mis en évidence que les lésions secondaires à une réduction néphronique de 80% étaient moins importantes chez des souris transgéniques EGFR-/- par rapport aux souris sauvages (108). Enfin, Strutz et al. ont montré que la stimulation *in vitro* par l'EGF induisait une augmentation des marqueurs mésenchymateux de cellules tubulaires épithéliales, suggérant ainsi un rôle potentiel de l'EGF dans la TEM et donc dans la fibrose rénale (109).

III.3.2.3 Stress oxydatif

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) semblent jouer un rôle important dans la néphrotoxicité de la ciclosporine. Les mécanismes ne sont pas encore élucidés mais il est probable que la ciclosporine diminue la synthèse de NO et stimule celle du peroxyde d'oxygène (H₂O₂) cytotoxique.

Le NO est un facteur vasodilatateur qui joue un rôle important dans le tonus vasculaire. Il est produit à partir de la L-arginine sous l'action de la NO synthétase (NOS). Il existe trois isoformes de NOS, toutes sont retrouvées dans le rein : la nNOS au niveau des cellules de la macula densa, la iNOS au niveau des cellules mésangiales et tubulaires proximales et la eNOS au niveau des cellules endothéliales. Les résultats concernant l'influence de la ciclosporine sur la synthèse de NO sont encore contradictoires. Le plus vraisemblable est que la ciclosporine module l'activité de la iNOS et diminue la synthèse de NO, ce qui contribue à la vasoconstriction (110). Cependant certaines études ne montrent pas d'effet de l'administration de la ciclosporine sur l'activité de la iNOS (111).

D'autre part, la ciclosporine augmente l'expression de H₂O₂ dans les cellules mésangiales et tubulaires. H₂O₂ induit alors des dégradations de l'ADN par action directe et par raccourcissement des télomères. Il favorise ainsi le vieillissement et la mort cellulaire. Cet effet semble être indirectement majoré par l'augmentation de la synthèse du NO par activation de la eNOS par H₂O₂. En effet, le NO est également impliqué dans la dégradation de l'ADN et les phénomènes de sénescence et de mort cellulaire en activant le facteur de transcription p53 (111)

Le stress oxydatif semble donc participer à la néphrotoxicité de la ciclosporine, d'une part en favorisant la vasoconstriction et d'autre part en activant les processus de vieillissement (sénescence) et/ de mort cellulaire (apoptose).

III.3.2.4 Effets cellulaires de la ciclosporine

* Apoptose / Sénescence cellulaire

D'importants phénomènes d'apoptose ont été clairement identifiés chez des patients transplantés recevant la ciclosporine depuis plusieurs années (112-114)) ainsi qu'*in vitro* dans des modèles de cellules tubulaires (113) et *in vivo* chez le rat (114,115).

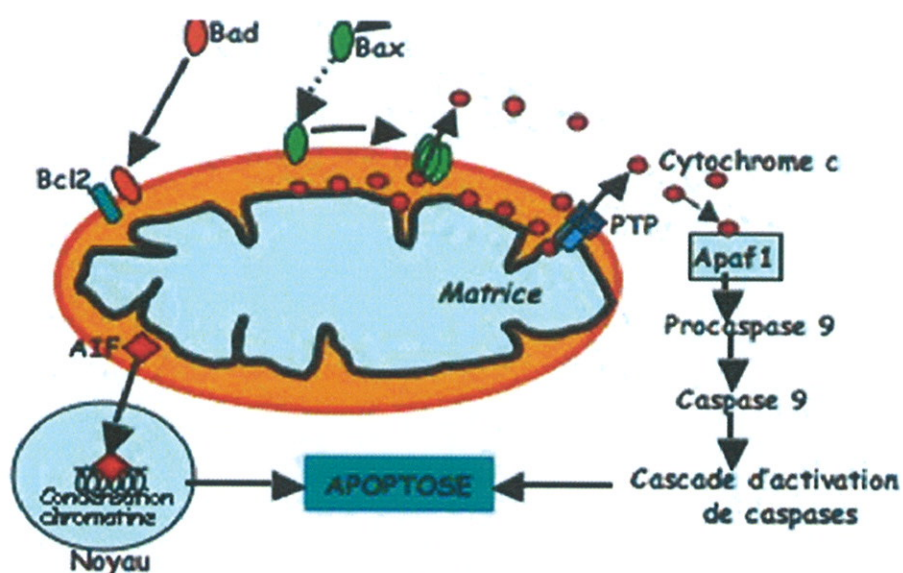


Figure 18 : Voies d'activation de l'apoptose.

Le mécanisme d'apoptose est gouverné par deux voies principales d'activation : une voie dite extrinsèque, impliquant des récepteurs appartenant à la superfamille des récepteurs au TNF et une voie dite intrinsèque mettant particulièrement en jeu les mitochondries et gouvernée par des protéines appartenant à la superfamille de Bcl-2 (figure 18).

L'apoptose induite par la ciclosporine passe préférentiellement par la voie intrinsèque. Elle est la conséquence de différentes modifications: augmentation de la synthèse des ROS, diminution de l'expression de Bcl-2, augmentation et translocation de Bax vers les mitochondries et activation du facteur de transcription p53. La ciclosporine induit également une augmentation de l'expression des caspases 2, 9 et 3 au niveau des cellules tubulaires.

Enfin, elle augmente l'expression de Fas (protéine transmembranaire appartenant à la famille du récepteur du TNF) au niveau des cellules tubulaires épithéliales (116).

La sénescence cellulaire est l'arrêt permanent de la croissance d'une cellule en phase G1 du cycle cellulaire. Après un certain nombre de cycles de division, la cellule cesse de se diviser mais reste vivante et métaboliquement active. Cet arrêt est causé par le raccourcissement à chaque cycle cellulaire des télomères. Récemment, les protéines inhibitrices de kinase dépendantes des cyclines p16 et p21 ont également été identifiées comme des facteurs d'activation de la sénescence cellulaire. Alors que p21 induit directement la réduction des télomères en activant le facteur de transcription p53, p16 semble induire la sénescence indépendamment du raccourcissement des télomères. Il semblerait que la prise de ciclosporine produise un stress cellulaire aux cellules tubulaires épithéliales rénales qui contribue à ce phénomène de sénescence en favorisant la production des ROS, le raccourcissement des télomères et la synthèse de p53 et de p16 (111).

* Modifications du cytosquelette

L'ensemble des propriétés architecturales et dynamiques des cellules repose sur l'existence d'un réseau de filaments et de tubules intracellulaires appelé cytosquelette. Celui-ci est composé de trois grandes classes d'éléments (figure 19) :

▸ des microtubules qui jouent un rôle dans la division cellulaire, le transport des grains de sécrétion et le mouvement des flagelles et qui sont composés de sous unités de tubuline.

▸ des filaments d'actine, associés en myofilaments dans les cellules musculaires et en micro-filaments dans les cellules non musculaires. Ils ont un rôle dans la formation:

- des microvillosités (bordure en brosse des cellules ayant un rôle important de résorption),
- des jonctions intercellulaires en association avec la zonula adherens,
- de l'adhérence des cellules à la matrice extracellulaire.

▸ des filaments intermédiaires regroupant 5 classes de protéines:

- la vimentine qui est exprimée par les cellules mésenchymateuses et sanguines,
- les kératines qui caractérisent les cellules épithéliales,
- la desmine qui caractérise les cellules musculaires,

- les neurofilaments qui caractérisent les cellules neuronales,
- les gliofilaments qui caractérisent les cellules gliales.

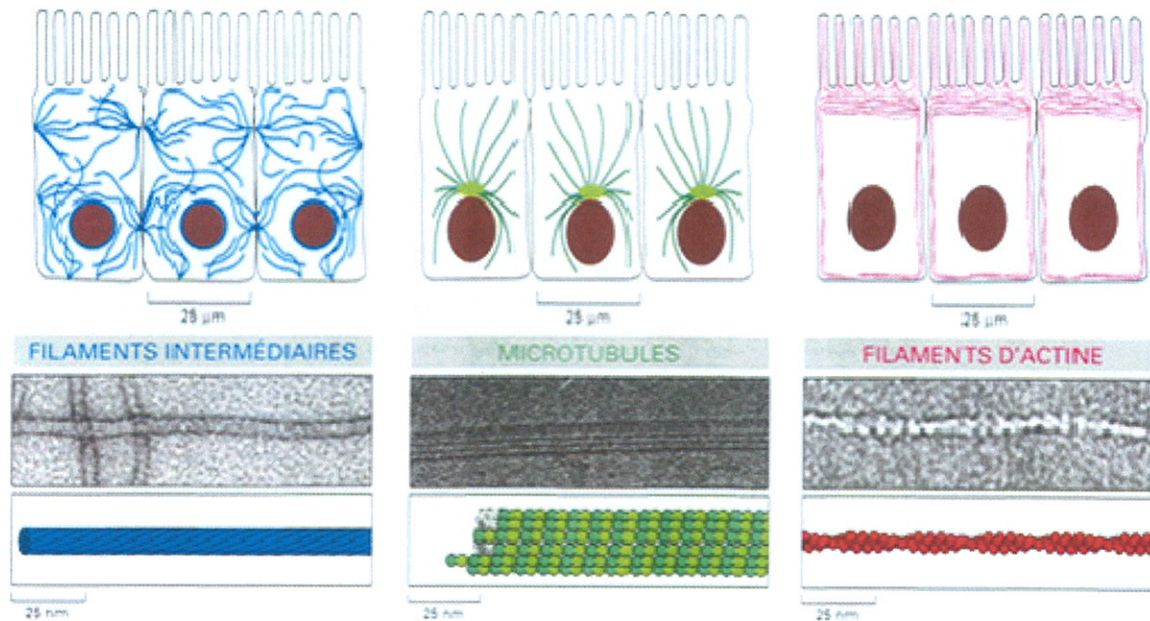


Figure 19 : Organisation du cytosquelette dans les cellules épithéliales.

Il existe peu d'étude concernant les effets de la ciclosporine sur l'organisation du cytosquelette. La plupart d'entre elles ont montré une désorganisation significative des filaments d'actine avec l'apparition de fibres de stress dans différents modèles de cellules épithéliales rénales humaines (cellules tubulaires et podocytes) (101,117,118). Elles ont également montré l'expression *de novo* d' α -SMA (101,118). Ces études montrent également une importante diminution de l'expression de la protéine d'adhésion cellulaire E-cadhérine (101,118), une modification de la localisation de la protéine de jonction ZO-1 (118) ainsi qu'une augmentation de la villine (protéine de la bordure en brosse) dans les surnageants cellulaires (119).

Ces résultats conduisent à penser que la ciclosporine exerce un effet toxique pour les cellules épithéliales rénales en désorganisant leur architecture et donc leur capacité à fonctionner correctement. D'autres travaux sont cependant nécessaires pour confirmer ces effets et en comprendre les mécanismes.

* Autres modifications phénotypiques

De nombreuses études ont mis en évidence le rôle néfaste de la ciclosporine sur le remodelage de la MEC et son implication dans l'initiation et la progression de la fibrose rénale observée à long terme.

Dans les cellules rénales épithéliales humaines HK2, la ciclosporine augmente l'expression du collagène IV, essentiellement distribué dans les membranes basales rénales et vasculaires ainsi que celle du collagène I (101,120). Elle augmente également l'expression de la fibronectine ((101,120).

La ciclosporine régule également les systèmes de dégradation des collagènes. Elle diminue ainsi l'expression de MMP9 (121) au niveau des cellules mésangiales et augmente celle de TIMP1 dans les cellules tubulaires épithéliales (101) et de TIMP2 dans les cellules glomérulaires (122).

CONCLUSION

La NCA est aujourd'hui l'un des problèmes majeurs de la transplantation rénale. En effet, cette forme particulière de maladie rénale est responsable d'une dysfonction progressive du rein qui aboutit à long terme à la perte du greffon et donc de l'échec de la greffe. La NCA est une maladie complexe et multifactorielle dont les mécanismes moléculaires restent encore largement inconnus. De nombreux facteurs immunologiques et non immunologiques sont impliqués dans son développement comme, en particuliers, les inhibiteurs de la calcineurine, médicaments immunosuppresseurs administrés après la greffe pour éviter les épisodes de rejet.

Ces inhibiteurs de la calcineurine (ciclosporine et tacrolimus) sont utilisés de manière courante en clinique malgré une importante néphrotoxicité qui pose un véritable problème à long terme. Les lésions rénales qu'ils induisent sont similaires à celles observées au cours de la NCA (fibrose interstitielle et atrophie tubulaire). De nombreuses études ont alors mis en évidence le rôle majeur de cette néphrotoxicité dans le développement de la maladie sans pour autant pouvoir en expliquer les mécanismes exacts. Aujourd'hui, il est seulement possible de limiter cette toxicité grâce au STP et à l'adaptation des posologies à l'aide d'outils comme les estimateurs Bayésiens, qui permettent d'administrer des doses minimales efficaces et de réduire ainsi les effets secondaires mais qui n'empêchent pas leur développement à long terme.

L'enjeu pour le futur est donc d'élucider les mécanismes cellulaires qui participent la néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine et à la progression irréversible des lésions rénales. Une meilleure connaissance de ces mécanismes toxiques permettrait alors de déterminer les moyens de contourner ces effets secondaires et d'améliorer ainsi la survie à long terme du greffon et celle du patient.

A l'image des études menées sur l'organisation des filaments d'actine, de nouvelles études doivent donc être réalisées afin de connaître les conséquences sur les cellules rénales de l'administration des inhibiteurs de la calcineurine. Ces études permettraient d'identifier l'ensemble des modifications phénotypiques induites par ces médicaments qui modifient les

capacités d'adaptation des cellules rénales à des situations particulières comme celle de la réduction néphronique faisant suite à la transplantation et qui aboutissent à la dysfonction rénale. Ces études pourraient ainsi porter sur l'organisation de l'ensemble du cytosquelette (filaments intermédiaires et tubuline) ainsi que sur l'expression d'autres molécules comme les protéines de jonction intercellulaires, de la bordure en brosse ou encore les protéines du cil primaire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Agence de la Biomédecine. Bilan des activités de prélèvements et de greffes en France, 2007. Agence de la Biomédecine 2007.
2. TRPKOV K, CAMPBELL P, PAZDERKA F, COCKFIELD S, SOLEZ K, HALLORAN PF. Pathologic features of acute renal allograft rejection associated with donor-specific antibody, Analysis using the Banff grading schema. *Transplantation* 1996;61: 1586-1592.
3. FEUCHT HE, FELBER E, GOKEL MJ et al. Vascular deposition of complement-split products in kidney allografts with cell-mediated rejection. *Clin Exp Immunol* 1991;86: 464-470.
4. COLLINS AB, SCHNEEBERGER EE, PASCUAL MA et al. Complement activation in acute humoral renal allograft rejection: diagnostic significance of C4d deposits in peritubular capillaries. *J Am Soc Nephrol* 1999;10: 2208-2214.
5. BOHMIG GA, EXNER M, HABICHT A et al. Capillary C4d deposition in kidney allografts: a specific marker of alloantibody-dependent graft injury. *J Am Soc Nephrol* 2002;13: 1091-1099.
6. SOLEZ K, COLVIN RB, RACUSEN LC et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant* 2008;8: 753-760.
7. POUTEIL-NOBLE C, ECOCHARD R, LANDRIVON G et al. Cytomegalovirus infection--an etiological factor for rejection? A prospective study in 242 renal transplant patients. *Transplantation* 1993;55: 851-857.
8. FAHR A. Cyclosporin clinical pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet* 1993;24: 472-495.
9. GHOSH P, SICA A, CIPPITELLI M et al. Activation of nuclear factor of activated T cells in a cyclosporin A-resistant pathway. *J Biol Chem* 1996;271: 7700-7704.
10. COPE AP. Studies of T-cell activation in chronic inflammation. *Arthritis Res* 2002;4 Suppl 3: S197-S211.
11. AKHLAGHI F, TRULL AK. Distribution of cyclosporin in organ transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 2002;41: 615-637.
12. DICTIONNAIRE VIDAL 2006. Vidal 2006 : le dictionnaire. Paris: 2006.
13. ZEHNDER C, BEVERIDGE T, NUESCH E, et al. Cyclosporine A capsules: bioavailability and clinical acceptance study in renal transplant patients. *Transplant Proc* 1988;20: 641-643.
14. BURKLE WS. Cyclosporine pharmacokinetics and blood level monitoring. *Drug Intell Clin Pharm* 1985;19: 101-105.
15. NOBLE S, MARKHAM A. Cyclosporin. A review of the pharmacokinetic properties, clinical efficacy and tolerability of a microemulsion-based formulation (Neoral). *Drugs* 1995;50: 924-941.
16. DUCHARME MP, VERRET L, BROUILLETTE D et al. Ability of a first-pass pharmacokinetic model to characterize cyclosporine blood concentrations after administrations of Sandimmune or Neoral formulations. *Ther Drug Monit* 1998;20: 165-171.
17. LINDHOLM A. Monitoring of the free concentration of cyclosporine in plasma in man. *Eur J Clin Pharmacol* 1991;40: 571-575.
18. KRONBACH T, FISCHER V, MEYER UA. Cyclosporine metabolism in human liver: identification of a cytochrome P-450III gene family as the major cyclosporine-metabolizing

- enzyme explains interactions of cyclosporine with other drugs. *Clin Pharmacol Ther* 1988;43: 630-635.
19. LOWN KS, KOLARS JC, THUMMEL KE et al. Interpatient heterogeneity in expression of CYP3A4 and CYP3A5 in small bowel. Lack of prediction by the erythromycin breath test. *Drug Metab Dispos* 1994;22: 947-955.
 20. CHRISTIANS U, SEWING KF. Cyclosporin metabolism in transplant patients. *Pharmacol Ther* 1993;57: 291-345.
 21. MAURER G. Metabolism of cyclosporine. *Transplant Proc* 1985;17: 19-26.
 22. COCKBURN I, GOTZ E, GULICH A, et al. An interim analysis of the on-going long-term safety study of cyclosporine in renal transplantation. *Transplant Proc* 1988;20: 519-529.
 23. BARROS EJ, BOIM MA, AJZEN H, et al. Glomerular hemodynamics and hormonal participation on cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int* 1987;32: 19-25.
 24. TANAKA H, KURODA A, MARUSAWA H et al. Physicochemical properties of FK-506, a novel immunosuppressant isolated from *Streptomyces tsukubaensis*. *Transplant Proc* 1987;19: 11-16.
 25. STARZL TE, TODO S, FUNG J, et al. FK 506 for liver, kidney, and pancreas transplantation. *Lancet* 1989;2: 1000-1004.
 26. WOODLE ES, THISTLETHWAITE JR, GORDON JH. Tacrolimus therapy for refractory acute renal allograft rejection: a prospective multicenter trial. Tacrolimus Kidney Transplantation Rescue Study Group. *Transplant Proc* 1996;28: 3163-3164.
 27. VENKATARAMANAN R, SWAMINATHAN A, PRASAD T et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clin Pharmacokinet* 1995;29: 404-430.
 28. HEITMAN J, MOVVA NR, HALL MN. Targets for cell cycle arrest by the immunosuppressant rapamycin in yeast. *Science* 1991;253: 905-909.
 29. SABERS CJ, MARTIN MM, BRUNN GJ et al. Isolation of a protein target of the FKBP12-rapamycin complex in mammalian cells. *J Biol Chem* 1995;270: 815-822.
 30. THOMAS G, HALL MN. TOR signalling and control of cell growth. *Curr Opin Cell Biol* 1997;9: 782-787.
 31. SAUNDERS RN, METCALFE MS, NICHOLSON ML. Rapamycin in transplantation: a review of the evidence. *Kidney Int* 2001;59: 3-16.
 32. NEUHAUS P, KLUPP J, LANGREHR JM. mTOR inhibitors: an overview. *Liver Transpl* 2001;7: 473-484.
 33. NAPOLI KL, TAYLOR PJ. From beach to bedside: history of the development of sirolimus. *Ther Drug Monit* 2001;23: 559-586.
 34. JACOBSEN W, SERKOVA N, HAUSEN B, et al. Comparison of the in vitro metabolism of the macrolide immunosuppressants sirolimus and RAD. *Transplant Proc* 2001;33: 514-515.
 35. KIRCHNER GI, MEIER-WIEDENBACH I, MANNS MP. Clinical pharmacokinetics of everolimus. *Clin Pharmacokinet* 2004;43: 83-95.
 36. PODDER H, STEPKOWSKI SM, NAPOLI KL et al. Pharmacokinetic interactions augment toxicities of sirolimus/cyclosporine combinations. *J Am Soc Nephrol* 2001;12: 1059-1071.
 37. BULLINGHAM RE, NICHOLLS AJ, KAMM BR. Clinical pharmacokinetics of mycophenolate mofetil. *Clin Pharmacokinet* 1998;34: 429-455.
 38. ALLISON AC, EUGUI EM. Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action. *Immunopharmacology* 2000;47: 85-118.

39. JAIN A, KASHYAP R, KRAMER D et al. Prospective randomized trial of tacrolimus and prednisone versus tacrolimus, prednisone, and mycophenolate mofetil: complete report on 350 primary adult liver transplantations. *Transplant Proc* 2001;33: 1342-1344.
40. ROTH D, COLONA J, BURKE GW, et al. Primary immunosuppression with tacrolimus and mycophenolate mofetil for renal allograft recipients. *Transplantation* 1998;65: 248-252.
41. SHAPIRO R, JORDAN ML, SCANTLEBURY VP et al. A prospective, randomized trial of tacrolimus/prednisone versus tacrolimus/prednisone/mycophenolate mofetil in renal transplant recipients. *Transplantation* 1999;67: 411-415.
42. NOWAK I, SHAW LM. Mycophenolic acid binding to human serum albumin: characterization and relation to pharmacodynamics. *Clin Chem* 1995;41: 1011-1017.
43. PICARD N, CRESTEIL T, PREMAUD A et al. Characterization of a phase I metabolite of mycophenolic acid produced by CYP3A4/5. *Ther Drug Monit* 2004;26: 600-608.
44. SCHUTZ E, SHIPKOVA M, ARMSTRONG VW et al. Identification of a pharmacologically active metabolite of mycophenolic acid in plasma of transplant recipients treated with mycophenolate mofetil. *Clin Chem* 1999;45: 419-422.
45. SHIPKOVA M, ARMSTRONG VW, WEBER L et al. Pharmacokinetics and protein adduct formation of the pharmacologically active acyl glucuronide metabolite of mycophenolic acid in pediatric renal transplant recipients. *Ther Drug Monit* 2002;24: 390-399.
46. SARMIENTO JM, DOCKRELL DH, SCHWAB TR et al. Mycophenolate mofetil increases cytomegalovirus invasive organ disease in renal transplant patients. *Clin Transplant* 2000;14: 136-138.
47. TER MEULEN CG, WETZELS JF, HILBRANDS LB. The influence of mycophenolate mofetil on the incidence and severity of primary cytomegalovirus infections and disease after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15: 711-714.
48. MARQUET P, RISCO E, LE GUELLEC C et al. *Suivi Thérapeutique Pharmacologique*. Paris: 2004.
49. TSUNODA SM, AWEEKA FT. The use of therapeutic drug monitoring to optimise immunosuppressive therapy. *Clin Pharmacokinet* 1996;30: 107-140.
50. BANNER NR, DAVID OJ, LEAVER N et al. Pharmacokinetics of oral cyclosporine (Neoral) in heart transplant recipients during the immediate period after surgery. *Transpl Int* 2002;15: 649-654.
51. COLE E, MAHAM N, CARDELLA C et al. Clinical benefits of neoral C2 monitoring in the long-term management of renal transplant recipients. *Transplantation* 2003;75: 2086-2090.
52. LEVY GA. Neoral C(2) in liver transplant recipients. *Transplant Proc* 2001;33: 3089-3091.
53. TADA H, SATOH S, IINUMA M et al. Chronopharmacokinetics of tacrolimus in kidney transplant recipients: occurrence of acute rejection. *J Clin Pharmacol* 2003;43: 859-865.
54. WONG KM, SHEK CC, CHAU KF et al. Abbreviated tacrolimus area-under-the-curve monitoring for renal transplant recipients. *Am J Kidney Dis* 2000;35: 660-666.
55. SHAW LM, KAPLAN B, BRAYMAN KL. Prospective investigations of concentration-clinical response for immunosuppressive drugs provide the scientific basis for therapeutic drug monitoring. *Clin Chem* 1998;44: 381-387.
56. NICHOLLS AJ. Opportunities for therapeutic monitoring of mycophenolate mofetil dose in renal transplantation suggested by the pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship for mycophenolic acid and suppression of rejection. *Clin Biochem* 1998;31: 329-333.

57. VAN GELDER T, TEDESCO-SILVA H. A prospective, randomized study comparing fixed dose versus concentration controlled MMF regimens For de novo patients Following renal transplantation (The FDCC trial). *Am J Transplant* 2006;6: 343-Abstract 819.
58. LE MY, BUCHLER M, THIERRY A et al. Individualized mycophenolate mofetil dosing based on drug exposure significantly improves patient outcomes after renal transplantation. *Am J Transplant* 2007;7: 2496-2503.
59. CECKA JM. The UNOS Renal Transplant Registry. *Clin Transpl* 2002; 1-20.
60. BALUJA P, HARAGSIM L, LASZIK Z. Chronic allograft nephropathy. *Adv Chronic Kidney Dis* 2006;13: 56-61.
61. HUME DM, MERILL JP, MILLER BF et al. Experiences with renal homotransplantation in the human: report of nine cases. *J Clin Invest* 1955;34: 327-382.
62. NANKIVELL BJ, BORROWS RJ, FUNG CL et al. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med* 2003;349: 2326-2333.
63. BOSMANS JL, YSEBAERT DK, VERPOOTEN GA. Chronic allograft nephropathy: what have we learned from protocol biopsies? *Transplantation* 2008;85: S38-S41.
64. YATES PJ, NICHOLSON ML. The aetiology and pathogenesis of chronic allograft nephropathy. *Transpl Immunol* 2006;16: 148-157.
65. EL-NAHAS AM. Plasticity of kidney cells: role in kidney remodeling and scarring. *Kidney Int* 2003;64: 1553-1563.
66. HERTIG A. Epithelial-mesenchymal transition of the renal graft. *Nephrol Ther* 2008;4 Suppl 1: S25-S28.
67. HARRIS RC, NEILSON EG. Toward a unified theory of renal progression. *Annu Rev Med* 2006;57: 365-380.
68. ABRASS CK, BERFIELD AK, STEHMAN-BREEN C et al. Unique changes in interstitial extracellular matrix composition are associated with rejection and cyclosporine toxicity in human renal allograft biopsies. *Am J Kidney Dis* 1999;33: 11-20.
69. BAKKER RC, KOOP K, SIJPKENS YW et al. Early interstitial accumulation of collagen type I discriminates chronic rejection from chronic cyclosporine nephrotoxicity. *J Am Soc Nephrol* 2003;14: 2142-2149.
70. CHATZIANTONIOU C, BOFFA JJ, THARAUX PL et al. Progression and regression in renal vascular and glomerular fibrosis. *Int J Exp Pathol* 2004;85: 1-11.
71. RODRIGO E, LOPEZ-HOYOS M, ESCALLADA R et al. Circulating levels of matrix metalloproteinases MMP-3 and MMP-2 in renal transplant recipients with chronic transplant nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15: 2041-2045.
72. SAUNDERS RN, BICKNELL GR, NICHOLSON ML. The impact of cyclosporine dose reduction with or without the addition of rapamycin on functional, molecular, and histological markers of chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 2003;75: 772-780.
73. INKINEN KA, SOOTS AP, KROGERUS LA et al. Fibrosis and matrix metalloproteinases in rat renal allografts. *Transpl Int* 2005;18: 506-512.
74. BERTHIER CC, LODS N, JOOSTEN SA et al. Differential regulation of metzincins in experimental chronic renal allograft rejection: potential markers and novel therapeutic targets. *Kidney Int* 2006;69: 358-368.
75. MELENHORST WB, VAN DEN HEUVEL MC, STEGEMAN CA et al. Upregulation of ADAM19 in chronic allograft nephropathy. *Am J Transplant* 2006;6: 1673-1681.

76. WANG Y, PRATT JR, HARTLEY B et al. Expression of tissue type plasminogen activator and type 1 plasminogen activator inhibitor, and persistent fibrin deposition in chronic renal allograft failure. *Kidney Int* 1997;52: 371-377.
77. GRANDALIANO G, DI PS, MONNO R et al. Protease-activated receptor 1 and plasminogen activator inhibitor 1 expression in chronic allograft nephropathy: the role of coagulation and fibrinolysis in renal graft fibrosis. *Transplantation* 2001;72: 1437-1443.
78. TANG WH, FRIESS H, DI MOLA FF et al. Activation of the serine proteinase system in chronic kidney rejection. *Transplantation* 1998;65: 1628-1634.
79. PAUL LC, BENEDIKTSSON H. Post-transplant hypertension and chronic renal allograft failure. *Kidney Int Suppl* 1995;52: S34-S37.
80. TAKADA M, NADEAU KC, HANCOCK WW et al. Effects of explosive brain death on cytokine activation of peripheral organs in the rat. *Transplantation* 1998;65: 1533-1542.
81. KOO DD, WELSH KI, MCLAREN AJ et al. Cadaver versus living donor kidneys: impact of donor factors on antigen induction before transplantation. *Kidney Int* 1999;56: 1551-1559.
82. KASISKE BL. Clinical correlates to chronic renal allograft rejection. *Kidney Int Suppl* 1997;63: S71-S74.
83. OJO AO, MEIER-KRIESCHE HU, HANSON JA et al. Mycophenolate mofetil reduces late renal allograft loss independent of acute rejection. *Transplantation* 2000;69: 2405-2409.
84. AZUMA H, BINDER J, HEEMANN U et al. Effects of RS61443 on functional and morphological changes in chronically rejecting rat kidney allografts. *Transplantation* 1995;59: 460-466.
85. BADID C, VINCENT M, MCGREGOR B et al. Mycophenolate mofetil reduces myofibroblast infiltration and collagen III deposition in rat remnant kidney. *Kidney Int* 2000;58: 51-61.
86. ROMERO F, RODRIGUEZ-ITURBE B, PARRA G et al. Mycophenolate mofetil prevents the progressive renal failure induced by 5/6 renal ablation in rats. *Kidney Int* 1999;55: 945-955.
87. PALLET N, THERVET E, LEGENDRE C et al. Sirolimus early graft nephrotoxicity: clinical and experimental data. *Curr Drug Saf* 2006;1: 179-187.
88. FLECHNER SM, KURIAN SM, SOLEZ K et al. De novo kidney transplantation without use of calcineurin inhibitors preserves renal structure and function at two years. *Am J Transplant* 2004;4: 1776-1785.
89. PIRSCH JD, MILLER J, DEIERHOI MH et al. A comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression after cadaveric renal transplantation. FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation* 1997;63: 977-983.
90. KATZNELSON S, CECKA JM. Immunosuppressive regimens and their effects on renal allograft outcome. *Clin Transpl* 1996; 361-371.
91. CHOI BS, SHIN MJ, SHIN SJ et al. Clinical significance of an early protocol biopsy in living-donor renal transplantation: ten-year experience at a single center. *Am J Transplant* 2005;5: 1354-1360.
92. MORESO F, SERON D, CARRERA M et al. Baseline immunosuppression is associated with histological findings in early protocol biopsies. *Transplantation* 2004;78: 1064-1068.
93. NANKIVELL BJ, BORROWS RJ, FUNG CL et al. Natural history, risk factors, and impact of subclinical rejection in kidney transplantation. *Transplantation* 2004;78: 242-249.
94. BOBADILLA NA, GAMBA G. New insights into the pathophysiology of cyclosporine nephrotoxicity: a role of aldosterone. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007;293: F2-F9.

95. SHANG MH, YUAN WJ, ZHANG SJ et al. Intrarenal activation of renin angiotensin system in the development of cyclosporine A induced chronic nephrotoxicity. *Chin Med J (Engl)* 2008;121: 983-988.
96. MEZZANO SA, RUIZ-ORTEGA M, EGIDO J. Angiotensin II and renal fibrosis. *Hypertension* 2001;38: 635-638.
97. LASSILA M, FINCKENBERG P, PERE AK et al. Comparison of enalapril and valsartan in cyclosporine A-induced hypertension and nephrotoxicity in spontaneously hypertensive rats on high-sodium diet. *Br J Pharmacol* 2000;130: 1339-1347.
98. JOHNSON RJ, ALPERS CE, YOSHIMURA A et al. Renal injury from angiotensin II-mediated hypertension. *Hypertension* 1992;19: 464-474.
99. FERIA I, PICHARDO I, JUAREZ P et al. Therapeutic benefit of spironolactone in experimental chronic cyclosporine A nephrotoxicity. *Kidney Int* 2003;63: 43-52.
100. PEREZ-ROJAS JM, DERIVE S, BLANCO JA et al. Renocortical mRNA expression of vasoactive factors during spironolactone protective effect in chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005;289: F1020-F1030.
101. MCMORROW T, GAFFNEY MM, SLATTERY C et al. Cyclosporine A induced epithelial-mesenchymal transition in human renal proximal tubular epithelial cells. *Nephrol Dial Transplant* 2005;20: 2215-2225.
102. KHANNA AK, CAIRNS VR, BECKER CG et al. Transforming growth factor (TGF)-beta mimics and anti-TGF-beta antibody abrogates the in vivo effects of cyclosporine: demonstration of a direct role of TGF-beta in immunosuppression and nephrotoxicity of cyclosporine. *Transplantation* 1999;67: 882-889.
103. ISLAM M, BURKE JF, JR., MCGOWAN TA et al. Effect of anti-transforming growth factor-beta antibodies in cyclosporine-induced renal dysfunction. *Kidney Int* 2001;59: 498-506.
104. CATTANEO D, PERICO N, GASPARI F et al. Nephrotoxic aspects of cyclosporine. *Transplant Proc* 2004;36: 234S-239S.
105. ROOS-VAN GRONINGEN MC, SCHOLTEN EM, LELIEVELD PM et al. Molecular comparison of calcineurin inhibitor-induced fibrogenic responses in protocol renal transplant biopsies. *J Am Soc Nephrol* 2006;17: 881-888.
106. VITKO S, VIKLICKY O. Cyclosporine renal dysfunction. *Transplant Proc* 2004;36: 243S-247S.
107. NAKOPOULOU L, STEFANAKI K, BOLETIS J et al. Immunohistochemical study of epidermal growth factor receptor (EGFR) in various types of renal injury. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9: 764-769.
108. TERZI F, BURTIN M, HEKMATI M et al. Targeted expression of a dominant-negative EGF-R in the kidney reduces tubulo-interstitial lesions after renal injury. *J Clin Invest* 2000;106: 225-234.
109. STRUTZ F, ZEISBERG M, ZIYADEH FN et al. Role of basic fibroblast growth factor-2 in epithelial-mesenchymal transformation. *Kidney Int* 2002;61: 1714-1728.
110. HAMALAINEN M, KORHONEN R, MOILANEN E. Calcineurin inhibitors down-regulate iNOS expression by destabilising mRNA. *Int Immunopharmacol* 2008.
111. JENNINGS P, KOPPELSTAETTER C, AYDIN S et al. Cyclosporine A induces senescence in renal tubular epithelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007;293: F831-F838.
112. HAUSER IA, SCHAEFFELER E, GAUER S et al. ABCB1 genotype of the donor but not of the recipient is a major risk factor for cyclosporine-related nephrotoxicity after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2005;16: 1501-1511.

113. ORTIZ A, LORZ C, CATALAN M et al. Cyclosporine A induces apoptosis in murine tubular epithelial cells: role of caspases. *Kidney Int Suppl* 1998;68: S25-S29.
114. THOMAS SE, ANDOH TF, PICHLER RH et al. Accelerated apoptosis characterizes cyclosporine-associated interstitial fibrosis. *Kidney Int* 1998;53: 897-908.
115. LEE SY, JO SK, CHO WY, Kim HK et al. The effect of alpha-melanocyte-stimulating hormone on renal tubular cell apoptosis and tubulointerstitial fibrosis in cyclosporine A nephrotoxicity. *Transplantation* 2004;78: 1756-1764.
116. SERVAIS H, ORTIZ A, DEVUYST O et al. Renal cell apoptosis induced by nephrotoxic drugs: cellular and molecular mechanisms and potential approaches to modulation. *Apoptosis* 2008;13: 11-32.
117. FAUL C, DONNELLY M, MERSCHER-GOMEZ S et al. The actin cytoskeleton of kidney podocytes is a direct target of the antiproteinuric effect of cyclosporine A. *Nat Med* 2008;14: 931-938.
118. SLATTERY C, CAMPBELL E, MCMORROW T et al. Cyclosporine A-induced renal fibrosis: a role for epithelial-mesenchymal transition. *Am J Pathol* 2005;167: 395-407.
119. ZIMMERHACKL LB, MESA H, KRAMER F et al. Tubular toxicity of cyclosporine A and the influence of endothelin-1 in renal cell culture models (LLC-PK1 and MDCK). *Pediatr Nephrol* 1997;11: 778-783.
120. ESPOSITO C, FORNONI A, CORNACCHIA F et al. Cyclosporine induces different responses in human epithelial, endothelial and fibroblast cell cultures. *Kidney Int* 2000;58: 123-130.
121. DOLLER A, AKOOL E, MULLER R et al. Molecular mechanisms of cyclosporin A inhibition of the cytokine-induced matrix metalloproteinase-9 in glomerular mesangial cells. *J Am Soc Nephrol* 2007;18: 581-592.
122. ESPOSITO C, FOSCHI A, PARRILLA B et al. Effect of calcineurin inhibitors on extracellular matrix turnover in isolated human glomeruli. *Transplant Proc* 2004;36: 695-697.

TABLE DES MATIERES

PLAN	5
LISTE DES ABREVIATIONS.....	6
INTRODUCTION	7
PARTIE I : LA GREFFE D'ORGANE.....	8
I. INTRODUCTION	8
I.1 <i>Quelques dates</i>	8
I.2 <i>Quelques chiffres</i>	9
II. ASPECTS IMMUNOLOGIQUES DE LA GREFFE : LE REJET	11
II.1 <i>Immunité à médiation cellulaire</i>	12
II.1.1 Les cellules effectrices.....	12
II.1.2 Le rejet cellulaire	12
II.2 <i>Immunité à médiation humorale</i>	15
II.2.1 Les cellules effectrices.....	15
II.2.2 Le rejet humoral.....	15
II.3 <i>Les différents types de rejet</i>	16
II.3.1 Le rejet hyper-aigu.....	16
II.3.2 Le rejet aigu accéléré.....	17
II.3.3 Le rejet aigu cellulaire	17
II.3.4 Le rejet chronique.....	18
II.4 <i>Classification de Banff</i>	19
III. LES AUTRES COMPLICATIONS.....	20
III.1 <i>Les complications cardio-vasculaires</i>	21
III.2 <i>Les complications infectieuses</i>	22
III.3 <i>Les complications néoplasiques</i>	22
PARTIE II : LES IMMUNOSUPPRESSEURS.....	23
I. PRINCIPE DES TRAITEMENTS IMMUNOSUPPRESSEURS	23
II. LES INHIBITEURS DE LA CALCINEURINE.....	25
II.1 <i>La ciclosporine A : SANDIMMUN[®] ; NEORAL[®]</i>	26
II.1.1 Indications	26
II.1.2 Pharmacocinétique.....	27
II.1.3 Effets indésirables.....	29
II.1.4 Interactions médicamenteuses	30

II.2	<i>Le Tacrolimus : PROGRAF®</i>	31
II.2.1	Indications	32
II.2.2	Pharmacocinétique.....	32
II.2.3	Effets indésirables.....	33
II.2.4	Interactions médicamenteuses	34
III.	LES INHIBITEURS DE LA MTOR	34
III.1	<i>Indications</i>	37
III.2	<i>Pharmacocinétique</i>	37
III.2.1	Pharmacocinétique du sirolimus.....	37
III.2.2	Pharmacocinétique de l'évérolimus.....	38
III.3	<i>Effets indésirables</i>	38
III.4	<i>Interactions médicamenteuses</i>	39
IV.	L'ACIDE MYCOPHENOLIQUE	39
IV.1	<i>Mécanisme d'action</i>	41
IV.2	<i>Indications</i>	42
IV.3	<i>Pharmacocinétique</i>	42
IV.3.1	Absorption et biodisponibilité	42
IV.3.2	Distribution.....	43
IV.3.3	Métabolisme	43
IV.3.4	Élimination	43
IV.4	<i>Effets indésirables</i>	44
IV.5	<i>Interactions médicamenteuses</i>	44
V.	SUIVI THERAPEUTIQUE PHARMACOLOGIQUE.....	45
V.1	<i>Généralités</i>	45
V.2	<i>STP des immunosuppresseurs</i>	47

PARTIE III : ROLE DES IMMUNOSUPPRESSEURS DANS LA NEPHROPATHIE

CHRONIQUE D'ALLOGREFFE.....	49	
I.	DE L'INSUFFISANCE RENALE CHRONIQUE A LA TRANSPLANTATION RENALE	49
II.	LA NEPHROPATHIE CHRONIQUE D'ALLOGREFFE	51
II.1	<i>Définition</i>	51
II.2	<i>Histologie</i>	52
II.3	<i>Physiopathologie</i>	53
II.3.1	Inflammation	53
II.3.2	Modifications cellulaires	54
II.3.3	Accumulation de la matrice extracellulaire	56
II.4	<i>Facteurs de risque de la NCA</i>	58

II.4.1	Facteurs immunologiques.....	58
II.4.2	Facteurs non immunologiques.....	59
III.	ROLE PROPRE DES IMMUNOSUPPRESSEURS DANS LA NCA.....	61
III.1	<i>Le mycophénolate mofétyl.....</i>	61
III.2	<i>Les inhibiteurs de la mTOR.....</i>	61
III.3	<i>Les inhibiteurs de la calcineurine.....</i>	62
III.3.1	Néphrotoxicité de la ciclosporine.....	63
III.3.2	Physiopathologie de la toxicité à long terme.....	64
	CONCLUSION.....	73
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	75
	TABLE DES MATIERES.....	82
	TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	85

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Evolution du nombre total de greffes réalisées et du nombre de patients inscrits sur liste d'attente en France entre 2001 et 2007	9
Figure 2 : Répartition des greffes d'organes réalisées en 2007	10
Figure 3 : Evolution du taux de survie du greffon rénal selon la période de greffe	11
Figure 4 : Cibles cellulaires des différents immunosuppresseurs.....	24
Figure 5 : Voies de signalisation de la calcineurine	25
Figure 6 : Formule développée de la ciclosporine A.....	26
Figure 7 : Formule développée du tacrolimus.....	31
Figure 8 : Voies de signalisation de la protéine mTOR	35
Figure 9 : Formules développées du sirolimus (A) et de l'évérolimus (B).....	36
Figure 10 : Structure chimique du mycophénolate mofétil, du mycophénolate sodique et de l'acide mycophénolique.....	40
Figure 11 : Schéma des voies de synthèse des bases puriques	41
Figure 12 : Schéma d'un néphron.....	50
Figure 13 : Mécanisme des le TEM	55
Figure 14 : Facteurs influençant la fibrose rénale	57
Figure 15 : Prévalence de la néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine	62
Figure 16 : Physiopathologie de la néphrotoxicité de la ciclosporine	65
Figure 17 : Schéma du système rénine-angiotensine-aldostérone.....	66
Figure 18 : Voies d'activation de l'apoptose.....	69
Figure 19 : Organisation du cytosquelette dans les cellules épithéliales.....	71
Tableau 1 : Liste des paramètres pris en compte dans la classification de Banff.....	20
Tableau 2 : Liste des principales complications de la greffe rénale.....	21
Tableau 3 : Principales interactions médicamenteuses de la ciclosporine.....	30

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

BON A IMPRIMER N° 3339

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

IMMUNOSUPPRESSEURS ET NEPHROPATHIE CHRONIQUE D'ALLOGREFFE

La transplantation rénale est la greffe d'organe la plus fréquemment réalisée. Alors que la survie du greffon à court terme a fortement été améliorée grâce, entre autre, à une meilleure connaissance des mécanismes immunologiques et à l'amélioration des traitements immunosuppresseurs, la survie à long terme du greffon et du patient pose encore un véritable problème. Seulement 36% des greffons et 58% des patients survivent 10 ans après la greffe. Rapidement après la transplantation, le greffon rénal est le siège d'une forme particulière de maladie rénale appelée néphropathie chronique d'allogreffe (NCA) qui est responsable d'une détérioration progressive de la fonction rénale. La NCA est un facteur pronostic majeur de la perte du greffon à long terme et est devenue l'un des problèmes majeurs de la transplantation. Les études menées sur les biopsies rénales ont apportés la preuve que les traitements immunosuppresseurs mis en place après la greffe pour éviter les épisodes de rejet jouaient un rôle majeur dans le développement et la progression de la NCA. Parmi ces traitements, les principaux incriminés sont les inhibiteurs de la calcineurine (ciclosporine et tacrolimus) car ils présentent tous les deux une importante toxicité rénale et conduisent à l'apparition de lésions histologiques similaires à celles observées au cours de la NCA. Ces lésions sont liées à des changements phénotypiques des cellules rénales qui modifient leur réponse à des situations particulière comme la réduction néphronique faisant suite à la transplantation.

Discipline : PHARMACIE

Mots clés : Transplantation, Néphropathie chronique d'allogreffe, Immunosuppresseurs, Modifications phénotypiques
